

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

GABRIELA CARDOSO MORAIS

**FATORES ASSOCIADOS AO ESTADO NUTRICIONAL
DE VITAMINA E EM LACTENTES ATENDIDOS DA
ATENÇÃO BÁSICA DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GO**

Goiânia
2016

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Gabriela Cardoso Moraes

Título do trabalho: **Fatores Associados ao Estado Nutricional de Vitamina E em Lactentes Atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO**

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Gabriela Cardoso
Nutricionista
CRN1-7784

Assinatura do (a) autor (a) ²

Data: 21 /07/2019

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

²A assinatura deve ser escaneada.

GABRIELA CARDOSO MORAIS

FATORES ASSOCIADOS AO ESTADO NUTRICIONAL DE VITAMINA E EM LACTENTES ATENDIDOS NA ATENÇÃO BÁSICA DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GO

Dissertação 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 do Rosário Gondim Peixoto

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

Linha de pesquisa: Diagnóstico e Intervenção Nutricional em Saúde

Financiamento: Ministério da Saúde/Coordenação-Geral de Alimentação e Nutrição, com gerência administrativo-financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo nº 552747/2011-4). Bolsa de Formação pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

Goiânia
2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**

Cardoso Morais, Gabriela
Fatores Associados ao Estado Nutricional de Vitamina E em
Lactentes Atendidos na Atenção Básica de Saúde de
Goiânia-GO [manuscrito] / Gabriela Cardoso Morais. - 2016.
XCIX, 99 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Maria do Rosário Gondim Peixoto;
Co orientadora: Dra. Maria Claret Costa Monteiro Hadler.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
Faculdade de Nutrição (Fanut), Programa de Pós-Graduação
em Nutrição e Saúde, Goiânia, 2016.
Bibliografia. Anexos. Apêndice.
Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Vitamina E. 2. Lactentes. 3. Alfa-tocoferol. 4. Deficiências
nutricionais. 5. Micronutrientes. I. Gondim Peixoto, Maria do
Rosário, orient. II. Título.

Ata número cento e um de defesa de dissertação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás. Às oito horas e trinta minutos do dia vinte e nove de fevereiro de dois mil e dezesseis, reuniu-se no(a) Miniauditório Jatobá, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação apresentado (a) pelo (a) Pós-Graduando (a) Gabriela Cardoso Morais intitulada: Fatores associados ao estado nutricional de vitamina E em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO, apresentado para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde, junto à Área de Concentração: Nutrição e Saúde, desta Universidade. O (A) Presidente da Comissão Julgadora Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Gondim Peixoto, iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao (a) candidato (a) para exposição em trinta minutos do seu trabalho. A seguir, o (a) senhor (a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de trinta minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu julgamento, considerando o (a) candidato (a) Aprovada [Aprovado (a) ou Reprovado (a)]. Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o (a) candidato (a), Habilitada [Habilitado (a) ou não Habilitado (a)]. Nada mais havendo a tratar, eu Secretário Douglas Antônio Rocha Prado lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, foi por todos assinada em três vias de igual teor. Esta ata tem validade de trinta dias a partir da data de defesa. A expedição do diploma fica condicionada a entrega do volume final da dissertação com correções e demais documentos previstos em regulamento.

Goiânia, vinte e nove de fevereiro de dois mil e dezesseis.

Banca Examinadora	Assinaturas
PROF ^a . DR ^a . MARIA DO ROSÁRIO GONDIM PEIXOTO	
PROF ^a . DR ^a . MARLY AUGUSTO CARDOSO	
PROF ^a . DR ^a . MARÍLIA MENDONÇA GUIMARÃES	

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:

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

GABRIELA CARDOSO MORAIS

**FATORES ASSOCIADOS AO ESTADO NUTRICIONAL
DE VITAMINA E EM LACTENTES ATENDIDOS NA
ATENÇÃO BÁSICA DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GO**

**Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 29 de fevereiro de 2016, pela
Banca Examinadora constituída pelos membros:**

Profª Drª Marly Augusto Cardoso
FSP/USP

Profª Drª Marília Mendonça Guimarães
FANUT/UFG

Profª Drª Maria do Rosário Gondim Peixoto
FANUT/UFG (orientadora)

Membros suplentes:

Profª Drª Ana Tereza Vaz de Souza Freitas
FANUT/UFG

Profª Drª Maria Luiza Ferreira Stringhini
FANUT/UFG

AGRADECIMENTOS

Nenhuma palavra seria suficiente para expressar toda a minha gratidão por aqueles que estiveram a meu lado neste período tão importante.

Sou eternamente grata a Deus, por sempre me guiar pelo caminho da felicidade, por me abençoar ao longo de toda minha caminhada, e por permitir que eu concluísse este trabalho com serenidade.

Quanto a meus pais, Odimar e Andreia, e a meu irmão, Lucas, sinto-me honrada pelo privilégio de tê-los em minha vida, e muito agradecida pelo incentivo, força, apoio, e amor que me transborda todos os dias. É por vocês que tudo na minha vida faz sentido.

Á todos os meus familiares, avós, tios, tias e primos, meu muito obrigada, por sempre estarem a meu lado, me amparando no momento de dificuldade, e celebrando comigo todas as minhas conquistas.

Á professora Zara, por ser uma orientadora exemplar que sempre cumpriu tão bem seu papel, me guiando, aconselhando, amparando em todas etapas dessa pesquisa. Sinto-me lisonjeada de ter dividido esse tempo com ela, e a considero um dos meus espelhos pessoais e profissionais.

Á professora Maria Claret, por toda ajuda na construção da pesquisa, pela sua paciência, simplicidade e apoio durante todo esse trajeto.

Á toda equipe ENFAC, que com tão boa vontade ajudou a pesquisa a tomar forma.

Ás queridas nutris e amigas Ludimila e Lara Livia. Que fique registrado como sua ajuda foi importante para que este trabalho tomasse forma. Todas as vezes que recorri a vocês, muitas delas desesperada, sempre fui atendida com prontidão e com um sorriso no rosto.

Ao meu amigo do coração, Mário Flávio, que além de me apoiar, me orientou em vários pontos da pesquisa e fez valiosas correções nessa etapa final. Muito obrigada urso!

As minhas amigas diferenciadas, Samantha, Wanessa, Isabella, Clarice e Naiara, por trazerem alegria a meus dias, forças nas horas difíceis, sorrisos nas horas alegres, e o privilégio de compartilhar com vocês momentos inesquecíveis.

À minha amada Galerinha, Erika, Lana, Rafaella, Lays, Romero e Ruan, pelos valiosos anos de amizade, boas vibrações nesse período, e pelos momentos Ímpares que compartilhamos a cada encontro.

À minha Queridagem, Lorena, Larissa, Jaqueline e Nathalia, por trazerem a arte a minha vida, muitas risadas, ótimas lembranças e compreensão a minha ausência.

Às amigas e colegas de trabalho, Rita e Renata. Obrigada por todo o incentivo quando o mestrado ainda era um plano, e por toda cumplicidade nesses três anos de convivência.

Aos amigos Andersom e Tia Iris, por fazerem da minha felicidade e minhas conquistas também a de vocês. Minha eterna gratidão por sempre acreditarem em mim.

Aos amigos maridos Flávio e Jeffersom, pelo ano de convivência que me trouxe amadurecimento, empoderamento, e muitas alegrias.

Às minhas queridas colegas do mestrado, em especial Patrícia, Lucinda, Priscila, Nathalia, Jordana, Malaine, Priscila, Ana Cristina, Lorena, por compartilharem momentos que ficarão em minha memória, e por entenderem melhor que ninguém as dúvidas, anseios e alegrias da vida acadêmica.

As professoras da FANUT que me receberam com tão boa vontade para esclarecimento de tantas dúvidas.

Por todas as crianças, mães e responsáveis que contribuíram de tão boa vontade para a coleta de dados.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A deficiência de vitamina E (DVE) ainda é pouco estudada no Brasil, mas dados do cenário internacional demonstram que essa é uma carência nutricional que atinge crianças menores de dois anos. **OBJETIVO:** Avaliar os fatores associados ao estado nutricional de vitamina E em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo transversal, com amostra de 228 crianças de 11 a 15 meses, atendidas em Unidades Básicas de Saúde de Goiânia-GO. O desfecho do estudo foi a concentração sérica de α -tocoferol, e o estado nutricional de deficiência de vitamina E foi identificado por valores de α -tocoferol sérico menores que 11,6 $\mu\text{mol/L}$. Para analisar a relação das variáveis independentes (socioeconômicos, demográficos, antropométricos, ambientais, bioquímicos, morbidades, de aleitamento materno e alimentares) sobre o log da concentração sérica de α -tocoferol foi realizada regressão linear múltipla. **RESULTADOS:** A mediana da concentração sérica de α -tocoferol foi 3,6 $\mu\text{mol/L}$, e a ocorrência de deficiência de vitamina E foi de 82,0%. Os fatores associados ao log da concentração sérica de α -tocoferol demonstraram que cada ano de estudo materno e cada unidade de retinol ocasiona acréscimo de 0,168 $\mu\text{mol/L}$ e 0,890 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. **CONCLUSÃO:** O log da concentração sérica de α -tocoferol teve associação positiva com escolaridade materna e concentração sérica de retinol. Medidas de prevenção a essa deficiência devem ser incorporadas as unidades de saúde, como incentivo a alimentação complementar saudável, fortificação de alimentos com vitamina E e investimento governamental em educação de pais.

Palavras-chave: vitamina E, lactentes, alfa-tocoferol, deficiências nutricionais, micronutrientes

ABSTRACT

Factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants attend of Public Health Center in Goiânia-GO

BACKGROUND: The deficiency of vitamin E (DVE) is not well known in Brazil, but the international scenario data show that this is a nutritional deficiency that affects children under two years. **OBJECTIVE:** To evaluate the factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants attend of the Basic Health Care Goiânia-GO. **METHODS:** This is a cross-sectional study with a sample of 228 children aged 11 to 15 months, met in the Basic Health Units of Goiânia-GO. The study endpoint was the serum concentration of α -tocopherol, and the nutritional status of vitamin deficiency and was identified by serum α -tocopherol values less than 11.6 $\mu\text{mol/L}$. To analyze the relationship of the independent variables (socioeconomic, demographic, anthropometric, environmental, biochemical, morbidities, breastfeeding and food) on the log of serum α -tocopherol multiple linear regression was performed. **RESULTS:** The median serum concentration of α -tocopherol was 3.6 $\mu\text{mol/L}$, and vitamin deficiency and occurrence was 82,0%. Factors associated with log serum concentration of α -tocopherol showed that each year of study and each maternal retinol unit causes increase of 0,168 $\mu\text{mol/L}$ and 0,890 $\mu\text{mol/L}$, respectively. **CONCLUSION:** The log of α -tocopherol serum concentration was positively associated with maternal education and serum retinol concentration. Measures to prevent this deficiency health facilities should be incorporated as an incentive healthy complementary feeding, food fortification with vitamin E and government investment in parent education.

Keywords: vitamin E, infants, alpha-tocopherol, nutritional deficiencies, micronutrient

LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS

CAPÍTULO 1

Quadro 1.	Conteúdo de vitamina E (mg α -TE) por porção de alimentos selecionados.....	19
Quadro 2.	Média de α -tocoferol sérico e prevalência de deficiência de vitamina E em crianças encontrada em estudos transversais.....	26
Figura 1.	Estrutura dos tocoferóis (A) e tocotrienóis (B).....	17
Figura 2.	Adaptação do mecanismo de absorção e transporte da vitamina E....	22
Figura 3.	Modelo teórico hierarquizado na determinação de concentração sérica de α -tocoferol em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO.....	36

CAPÍTULO 2

Tabela 1.	Caracterização das crianças atendidas na Atenção Básica de Saúde, Goiânia-GO, 2013 (n=228).....	64
Tabela 2.	Comparação de características das crianças segundo categorias de pontos de corte para concentrações séricas de α -tocoferol em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO, 2013 (n=228).....	65
Tabela 3.	Análise de regressão linear, ajustada por sexo e idade da criança, das variáveis independentes sobre o desfecho <i>log</i> de concentração sérica de α -tocoferol em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO, 2013 (n=228).....	66
Tabela 4.	Análise de regressão linear múltipla de fatores relacionados a concentração sérica de α -tocoferol em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO, 2013 (n=228).....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADVE	Ataxia por deficiência de vitamina E
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
BF	Bolsa Família
C/I	Índice Comprimento/Idade
CAIS	Centro de Atenção Integral a Saúde
CIAMS	Centro Integrado de Assistência Médico Sanitária
cm	Centímetro
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CT	Colesterol total
DS	Distritos Sanitários
DVE	Deficiência de vitamina E
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ESF	Estratégia Saúde da Família
FAPEG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás
FSP	Faculdade de Saúde Pública
G	Grama
g/L	Grama por litro
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HIV+	Positivo para o vírus da imunodeficiência adquirida
IMC/I	Índice de Massa Corporal/Idade
IOM	Instituto de Medicina
ISSN	International Standard Serial Number
Kcal	Quilocalorias
Kg	Kilogramas
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipase lipoprotéica
ml	Mililitros
mg/dL	Miligramas por decilitro
mg/g	Miligramas por grama
mm	Milímetro
NutriSUS	Estratégia de fortificação da alimentação infantil com micronutrientes em pó
PSE	Programa Saúde na Escola
ROO°	Radical orgânico peroxil
SUS	Sistema Único de Saúde
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGL	Triglicerídeos
UABSF	Unidade de Atenção Básica Saúde da Família
USP	Universidade de São Paulo
Vit E-O°	Radical tocoferoxil
Vit E-OH	Grupo hidroxil fenólico de tocoferol
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade
Ya	Nutriente ajustado
Yc	Constante
Ye	Nutriente estimado
Yo	Nutriente bruto
Yr	Resíduo

$\mu\text{mol/L}$	Micromol por litro
$\mu\text{mol/mmol}$	Micromol por milimol
A	Alfa
$\alpha\text{-TE}$	α -tocoferol
$\alpha\text{-TTP}$	Proteína de transferência de α -tocoferol
B	Beta
β_0 e β_1	Coeficientes da regressão linear
γ	Gama
λ	Lambda
%	Percentual

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 DEFINIÇÃO, FUNÇÕES E FONTES DE VITAMINA.....	17
2.2 ABSORÇÃO, TRANSPORTE E METABOLISMO DA VITAMINA E ...	21
2.3 INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL E DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E.....	22
2.4 EPIDEMIOLOGIA DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E	24
2.5 CONTROLE DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E.....	26
3 OBJETIVOS.....	30
3.1 OBJETIVO GERAL.....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 ESTUDO MATRIZ.....	31
4.2 DELINEAMENTO E AMOSTRAGEM.....	32
4.3 COLETA DE DADOS	33
4.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.....	33
4.5 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA.....	34
4.6 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR.....	34
4.7 VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	36
4.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	38
4.9 ASPECTOS ÉTICOS.....	39
4.10 FOMENTO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41
CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO.....	48
INTRODUCTION.....	52
MATERIAL E MÉTHODS.....	53
RESULTS.....	56
DISCUSSION.....	57
REFERÊNCES.....	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
APÊNDICES.....	67
ANEXOS.....	79

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel, cuja forma atuante nos tecidos humanos é o α -tocoferol (SHEKELLE et al., 2004). As funções da vitamina E estão associadas principalmente a seu poder antioxidante, e seu papel na manutenção da integridade das membranas celulares do sistema imunológico (TRABER; KAMAL-ELDIN, 2007). As principais fontes alimentares de vitamina E são os óleos vegetais (girassol, algodão, cártamo, canola, milho, soja), castanhas, cereais integrais e vegetais verde escuros (GALLAGHER, 2010).

A presença de deficiência de vitamina E (DVE) pode levar ao comprometimento neurológico e muscular (neuropatia periférica progressiva, ataxia e fraqueza muscular), tanto em adultos como crianças, principalmente aquelas com menos de 24 meses de idade (APARICIO et al., 2001). Nos recém-nascidos, quantidades insuficientes de vitamina E podem prejudicar o desenvolvimento do sistema imunológico e pulmonar, tornando-o propenso a desenvolver anemia hemolítica na infância, principalmente quando prematuro e com baixo peso (ANTONAKOU et al., 2011).

A literatura aponta que as causas determinantes para DVE em crianças são a presença de síndromes de má absorção de gorduras e defeitos genéticos na função da proteína de transferência de α -tocoferol (α -TTP) (CLARKE; BURNETT; CROFT, 2008). Em revisão bibliográfica que avaliou 11 publicações sobre o assunto, observou-se que a baixa ingestão de alimentos contendo vitamina E, a presença de obesidade e condições socioeconômicas adversas são também consideradas fatores de risco para a DVE (DROR; ALLEN, 2011).

Em estudos internacionais, a prevalência de DVE variou entre 2,6 a 69%, como em estudos realizados nos Estados Unidos com 77 crianças de 5 meses a 6 anos de idade (SPANNAUS-MARTIN et al., 1997), e com 29 crianças de 4 a 8 anos de idade (KIM et al., 2006), respectivamente, ambos utilizando como ponto de corte a concentração sérica de α -tocoferol $< 11,6 \mu\text{mol/L}$. Já em pesquisa realizada no Brasil com 702 crianças de quatro a 10 anos residentes no estado do Acre, a prevalência de DVE foi de 8,8%

(AUGUSTO; COBAYASHI; CARDOSO, 2014). Na década de 60 alguns pesquisadores iniciaram estudos que identificaram concentrações séricas de α -tocoferol na faixa saudável para valores acima de 0,5 mg/dL (11,6 μ mol/L) e que posteriormente foi elucidado pelo Instituto de Medicina (IOM) como ponto de corte para identificação de DVE em toda população (IOM, 2000). Contudo, Farrell e colaboradores (1978) sugerem um ponto de corte alternativo para identificar tal deficiência em crianças, com valores inferiores a 7,0 μ mol/L.

Tendo em vista os prejuízos que a DVE pode ocasionar na infância, e que no Brasil há poucos dados que avaliem os fatores associados a esta deficiência em crianças menores de dois anos, salienta-se a necessidade de realização desse estudo. Essa pesquisa foi norteadada pelo seguinte questionamento: “Quais são os fatores associados ao estado nutricional de vitamina E em lactentes usuários da Atenção Básica de Saúde de Goiânia?”

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO, FUNÇÕES E FONTES DE VITAMINA E

A vitamina E é um micronutriente lipossolúvel, que engloba duas classes de substâncias, os tocoferóis e tocotrienóis, que se diferem conforme sua estrutura (CLARKE; BURNETT; CROFT, 2008). Os tocoferóis possuem um sistema de anel hidroxilado com uma cadeia lateral longa saturada e os tocotrienóis com uma cadeia lateral insaturada (IOM, 2000), conforme demonstrado na Figura 1. O α -tocoferol é a única forma de vitamina E com atuação no plasma e tecidos humanos com capacidade de reverter os sintomas de DVE em seres humanos (TRABER, 2007).

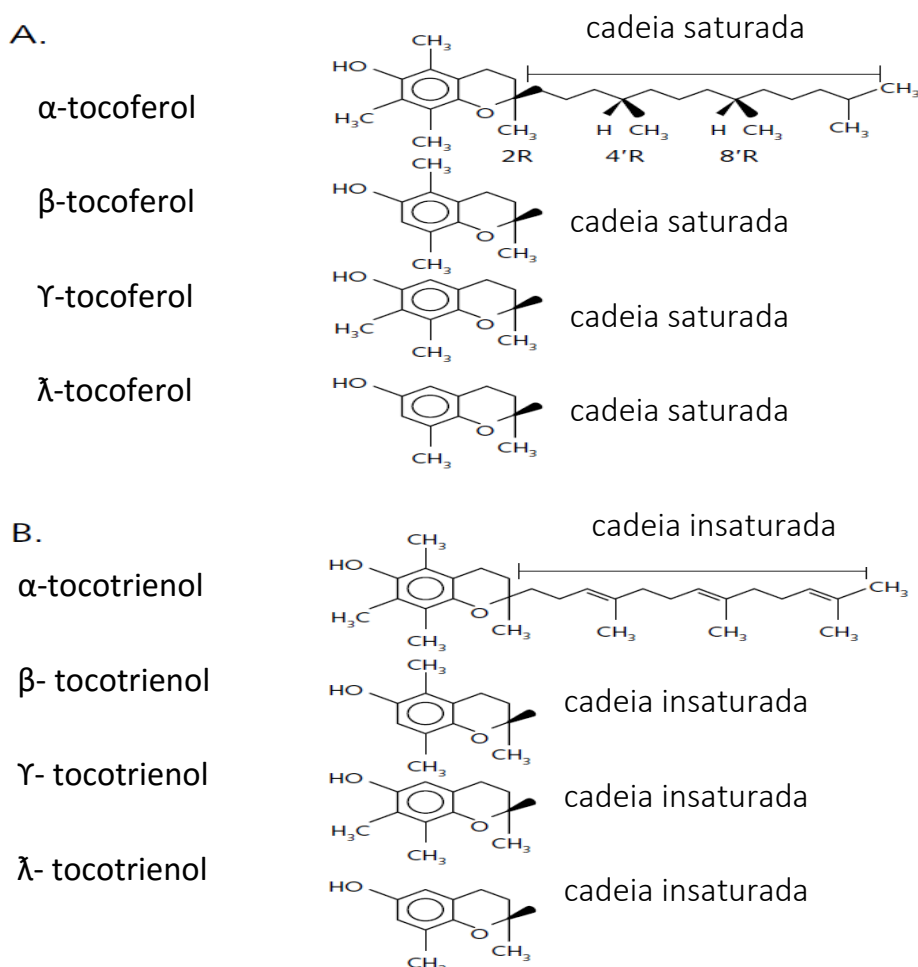


Figura 1. Estrutura dos tocoferóis (A) e tocotrienóis (B) (IOM, 2000).

A vitamina E é essencial nos primeiros estágios da vida, desde a concepção até o desenvolvimento pós-uterino, sendo a transferência placentária a forma inicial de obtenção da vitamina E pelo feto (LIMA; DIMENSTEIN; RIBEIRO, 2014). Quando essa transferência não é eficiente, o recém-nascido pode desenvolver DVE, levando consequentemente ao aparecimento de anemia hemolítica, hemorragia intraventricular e displasia broncopulmonar, em função da peroxidação lipídica nas membranas de eritrócitos (DEBIER, 2007).

Essa vitamina tem como principal função a ação antioxidante, ao proteger os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), componentes de membranas celulares e lipoproteína de baixa densidade (LDL) contra os efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio (GALLAGHER, 2010). Esse papel antioxidante se dá pela ação de um grupo hidroxil fenólico de tocoferol (Vit E-OH) que reage com um radical orgânico peroxil (ROO°) para formar o hidroperóxido orgânico correspondente e o radical tocoferoxil (Vit E- O°) (TRABER; SIES, 1996):



O radical tocoferoxil pode então, ter quatro prováveis destinos: ser reduzido por outros antioxidantes de tocoferol; reagir com outro radical tocoferoxil para formar produtos não-reativos, como dímeros de tocoferol; ser oxidado pela tocoferol-quinona; agir como um pró-oxidante e oxidar outros lipídios (IOM, 2000).

Outra função importante da vitamina E é sua atuação na manutenção do sistema imune em geral, pela propriedade de aumento na fluidez da membrana de células do sistema imunológico (BRAMLEY et al., 2000; KOLB; SEEHAWER, 1998). Essa ação da vitamina E impede a autodestruição de neutrófilos durante o estresse oxidativo (MEYDANI et al., 1990).

Por sua grande importância na saúde humana, a vitamina E precisa ser ingerida na quantidade recomendada para desempenhar suas funções no organismo. Conforme indicado pelo IOM, a recomendação de ingestão de vitamina E para crianças de 7 meses a 3 anos de idade é de 5 – 6 mg/dia (IOM,

2000). Para tanto, a ingestão regular de alimentos fonte de vitamina E por crianças dessa faixa etária é de suma importância.

Conforme estabelecido pela RDC n 54 de 12 de novembro de 2012, um alimento fonte de vitaminas é aquele que tenha ao menos 15% da recomendação para cada 100g de alimento sólido, ou em uma porção (BRASIL, 2012). Assim, são consideradas fontes de vitamina E os óleos vegetais (gérmen de trigo, girassol, algodão, cártamo, canola, milho, soja), azeite, margarina, castanhas (amêndoa, avelã, pistache, castanha-do-Pará, nozes), aveia, e alguns vegetais verde-escuros (espinafre, brócolis e chicória) (GALLAGHER, 2010, USDA, 2015). As principais fontes de vitamina E e a quantidade de α -tocoferol (α -TE em mg) presente em porção de alimentos encontram-se descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Conteúdo de vitamina E (mg) por porção de alimentos selecionados.

Alimento	Porção*	α-TE* (mg)
Óleo de gérmen de trigo	Colher de sopa nivelada (8g)	11,9
Amêndoa	Colher de sopa cheia (18g)	4,6
Semente de girassol seca	Colher de sopa cheia (12g)	4,2
Óleo de girassol	Colher de sopa nivelada (8g)	3,3
Óleo de algodão	Colher de sopa nivelada (8g)	2,8
Óleo de cártamo	Colher de sopa nivelada (8g)	2,8
Margarina	Colher de sopa cheia (20g)	2,4
Avelã	Colher de sopa cheia (15g)	2,3
Óleo de canola	Colher de sopa nivelada (8g)	1,4
Óleo de milho	Colher de sopa nivelada (8g)	1,2
Óleo de amendoim e azeite	Colher de sopa nivelada (8g)	1,2
Azeite	Colher de sopa nivelada (8g)	1,2
Gérmen de trigo	Colher de sopa cheia (7,5g)	1,2
Abacate	¼ Unidade pequena (36g)	1,0
Castanha do Pará	3 Unidades médias (12g)	0,6
Óleo de soja	Colher de sopa nivelada (8g)	0,6
Gema de ovo	Unidade pequena (10g)	0,5
Espinafre refogado	Colher de sopa cheia (15g)	0,5
Aveia em flocos	Colher de sopa cheia (7,5g)	0,4
Pistache	Colher de sopa cheia (15g)	0,4
Nozes	Colher de sopa cheia (12,5g)	0,3
Brócolis cozido	Colher de sopa cheia (7g)	0,2
Chicória crua	Folha pequena (7g)	0,2
Leite materno	100ml	0,06

* α -TE: α -tocoferol

Fonte: Traduzido de USDA, 2015.

* Medidas caseiras provenientes de REIS; NAVES, 1998

Para alcançar a ingestão recomendada de vitamina E para crianças menores de dois anos, sua alimentação deverá ser balanceada em quantidade e qualidade nutricional, evitando-se assim sua deficiência, além de outras doenças futuras (SBP, 2008), sendo a alimentação complementar adequada também para um crescimento e desenvolvimento adequado. Nesse contexto de incentivo a alimentação saudável, o Guia Alimentar para Crianças Menores de 2 anos (MS, 2005) faz a sugestão de três cardápios compostos por alimentos naturais e minimamente processados. Dois cardápios são indicados para crianças de 6 a 11 meses contendo cerca de 850kcal, e o terceiro cardápio é indicado para crianças de 12 a 23 meses com cerca de 1.300 kcal, conforme demonstrado no Anexo A. Observamos que estes atingem a recomendação do IOM para crianças na faixa etária de 6 a 11 meses (10,8 mg e 10,1 mg) e 12 a 23 meses (7,2 mg) (Apêndice A).

Além do consumo adequado de alimentos fonte de vitamina E, a manutenção de níveis séricos satisfatórios dessa vitamina depende de outros fatores alimentares. A relação entre ingestão da vitamina E e AGPIs indica que a quantidade de vitamina E necessária para impedir a hemólise dos eritrócitos aumenta à medida que os AGPIs nos tecidos também aumentam (LEHMAN et al., 1986). Para se considerar uma ingestão de ambos adequada, foi sugerida a razão α -tocoferol / AGPI com valores acima de 0,4 mg/g (NRC, 1989).

Outro aspecto relevante é o consumo de óleos vegetais pela população de baixa renda. Estudos mostram que o consumo, principalmente de óleo de soja, está muito acima do recomendado pelo Guia Alimentar para a População Brasileira (MS, 2005), principalmente em famílias com renda per capita mensal inferior a meio salário mínimo (BORGES et al., 2015). Apesar desses óleos serem boa fonte de vitamina E e utilizados em uma série de preparações, em sua maior parte frituras, sua exposição a altas temperaturas acarreta em mudanças químicas e físicas (SANIBAL, MANCINI-FILHO; 2002), o que leva a formação de características antinutricionais, com a formação de inibidores enzimáticos, destruição de vitaminas antioxidantes, produtos de oxidação de lipídios, agentes mutagênicos ou cancerígenos, entre outros (JORGE et al., 2005). Dessa forma as frações de vitamina E são menos absorvidas podendo acarretar a sua insuficiência no organismo.

2.2 ABSORÇÃO, TRANSPORTE E METABOLISMO DA VITAMINA E

A absorção da vitamina E acontece no lúmen intestinal por meio de difusão passiva, sendo efetiva na presença de micelas, gorduras dietéticas, secreções biliares e pancreáticas (IOM, 2000). Na ausência desses componentes, a absorção de vitamina E e sua secreção para o interior do sistema linfático são reduzidas (SOKOL et al., 1989).

Dentro dos enterócitos a vitamina E é incorporada aos quilomícrons, juntamente com triacilgliceróis, colesterol livre e esterificado, fosfolípidos e apolipoproteínas, para serem, então, secretados na linfa (COHN, 1997). Ao chegar na corrente sanguínea, essa estrutura sofre ação da lipase lipoprotéica (LPL), que atua na hidrólise dos triacilgliceróis que estão nos quilomícrons, formando os quilomícrons remanescentes (RONCADA, 2000). No catabolismo dos quilomícrons uma parte da vitamina E absorvida é transferida para lipoproteínas circulantes e captada pelos tecidos extra-hepáticos, e a outra permanece nos quilomícrons remanescentes (TRABER, 2006).

A ação da LPL leva a uma diminuição no núcleo dos quilomícrons, possibilitando que a vitamina E migre para a superfície e se incorpore a lipoproteínas de alta densidade (HDL), para posteriormente ser entregue a outras lipoproteínas circulantes, e assim serem distribuídas nos tecidos periféricos (TRABER, 2007). Os quilomícrons remanescentes são captados pelo fígado, e os compostos de vitamina E sofrem uma diferenciação por conta dos graus de afinidade dos mesmos pela proteína ligadora de tocoferol, presente nos hepatócitos (COHN et al., 1988). Dentre as proteínas ligadoras de tocoferol destaca-se a α -TTP que escolhe o mesmo de forma seletiva para se incorporar a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), e ser distribuída para os tecidos (MARQUEZ et al., 2002).

As moléculas de VLDL são metabolizadas de forma similar aos quilomícrons pela LPL. No processo de lipólise, a vitamina E associada tanto aos quilomícrons quanto a VLDL é transferida para os tecidos periféricos associadas a lipoproteínas de alta e baixa densidade (HDL e LDL), que transportarão a vitamina E para células de tecidos periféricos (TRABER, 2006; TRABER, 2007). O esquema acima citado pode ser visualizado na Figura 2.

O produto principal da oxidação do α -tocoferol é a α -tocoferil quinona, sendo conjugada para formar o glicuronato após redução da hidroquinona. Este é excretado na bile, ou posteriormente degradado em ácido α -tocoferônico nos rins e excretado na urina, e possui uma cadeia lateral encurtada e uma estrutura cromada aberta, o que indica que foi formado a partir de α -tocoferol que reagiu como um antioxidante (DREVON, 2001). Os metabólitos degradados na bile são excretados via eliminação fecal, em decorrência de sua baixa absorção intestinal (TRABER, 2007).

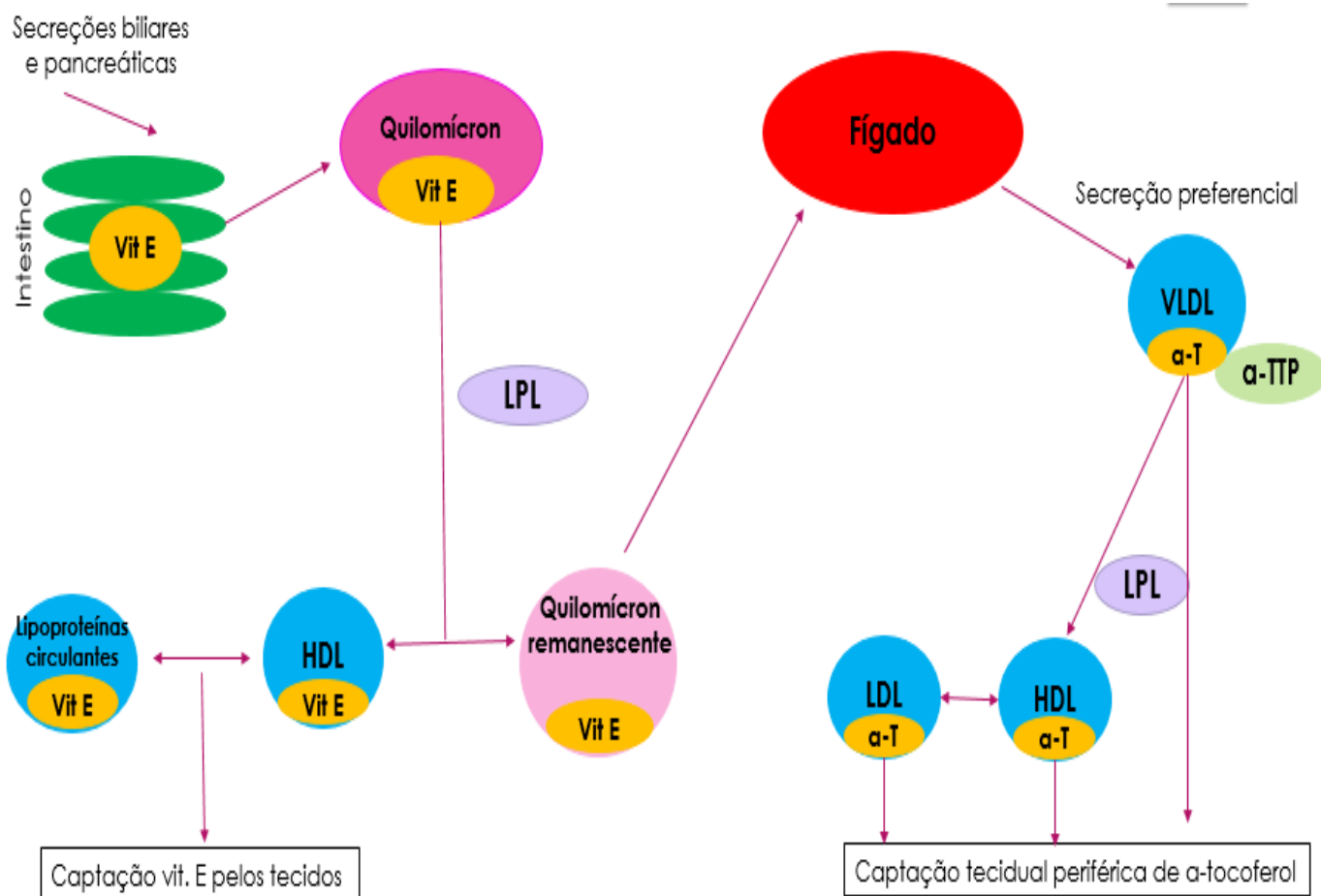


Figura 2. Adaptação do mecanismo de absorção e transporte da vitamina E (TRABER, 2006)

2.3 INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL E DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E

Os valores de α -tocoferol séricos são os biomarcadores mais largamente utilizados para se determinar o estado nutricional de vitamina E (DROR;

ALLEN, 2011). Estudos apontaram que a determinação do estado nutricional de vitamina E também pode ser feita pela correlação com as concentrações de lipídeos sanguíneos, como colesterol total (CT) e triglicerídeos (TGL) (KANG et al., 2004). Alguns pesquisadores utilizam as razões α -tocoferol/(CT+TGL) ($< 1,59 \mu\text{mol}/\text{mmol}$), e α -tocoferol/CT ($< 1,44 \mu\text{mol}/\text{mmol}$) para identificar DVE (FARRELL et al., 1978; THURNHAM et al., 1986; VATASSERY; KREZOWSKI; ECKFELDT, 1983).

Outros estudos utilizaram a razão α -tocoferol/lipídios totais (colesterol + triglicérides + fosfolípidos) como indicador do estado nutricional de vitamina E, estipulando como ponto de corte o valor de $< 0,8 \text{ mg/g}$ para identificação da deficiência (HORWITT et al., 1972; SCHWENKE, 1996). Ao utilizar esse ponto de corte em pesquisa com 22 pré-escolares de 2 a 5 anos de idade, Drewel e colaboradores (2006) encontraram uma prevalência de DVE em aproximadamente 70% da amostra. Esses índices são utilizados como indicadores do estado nutricional de vitamina E, e tem a vantagem de serem mais sensíveis, ao apontar que os baixos níveis de tocoferol no plasma de crianças pode ser atribuído ao seu menor teor de lipídios sanguíneos (HORWITT et al., 1972; FARRELL, BIERI, 1975).

Pesquisadores da América do Norte investigaram as concentrações séricas de α -tocoferol em adultos desde meados da década de 60 (BIERI et al., 1964; HARRIS et al., 1961), e os resultados encontrados mostraram um nível de α -tocoferol médio de $1,05 \text{ mg/dL}$ no plasma ou soro, e que os valores individuais seguiam a distribuição da curva de Gauss com valores entre $0,5$ e $1,6 \text{ mg/dL}$ (BIERI, 1976). A partir destes resultados e dos achados dos testes de hemólise eritrocitária (NRROWSKY; CORNBLATH; GORDON, 1956), foi estabelecido como o "limite abaixo do normal" valores totais de α -tocoferol, sérico de $0,5 \text{ mg/dL}$ ($11,6 \mu\text{mol/L}$), o qual posteriormente foi estabelecido pelo Instituto de Medicina (IOM) como ponto de corte para identificação de DVE em toda população (IOM, 2000). Alguns pesquisadores fizeram a proposta de um ponto de corte alternativo para identificar DVE em crianças, visto que essas possuem concentrações de α -tocoferol menores que adultos, sugerindo valores séricos de α -tocoferol abaixo de $7 \mu\text{mol/}$ (FARRELL et al., 1978).

2.4 EPIDEMIOLOGIA DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E

Estudos internacionais que avaliaram a prevalência de DVE no mundo, mostraram percentuais que variaram entre 2,6% a 69%, e foram conduzidos tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, variando conforme localidade e faixa etária estudada, cujos dados podem ser vistos no Quadro 2. A presente pesquisa é pioneira no estado de Goiás, pois nenhum estudo desse cunho foi realizado na região, e no Brasil poucos estudos sobre o estado nutricional de vitamina E foram realizados em crianças, sendo que nenhum apontou os fatores associados a essa deficiência.

A DVE é caracterizada por neuropatia periférica progressiva com degenerações de axônios mais calibrosos de neurônios sensoriais (SOKOL et al., 1989), ataxia e fraqueza muscular (APARICIO et al., 2006), danos na retina que levam a cegueira (retinite pigmentosa) (CLARKE; BURNETT; CROFT, 2008). Indivíduos com mutações recessivas autossômicas no gene para α -TTP (ataxia por deficiência de vitamina E - ADVE) apresentam sintomas neurodegenerativos incluindo ataxia cerebelar, perda de reflexos profundos de tendões, distúrbios no sentido vibratório, disartria, fraqueza muscular e distonia (APARICIO et al., 2006).

O risco de desenvolver uma DVE pode ser influenciado tanto pela ingestão deficiente de alimentos contendo vitamina E, como pela idade ou presença de obesidade. Crianças e idosos são os mais atingidos por essa deficiência, em decorrência da ingestão diminuída de alimentos que contenham esse micronutriente (TRABER; KAMAL-ELDIN, 2007). A DVE pode também ser resultado de alguns fatores importantes, como desnutrição grave, síndromes de má absorção de gorduras (fibrose cística, doença hepática colestática e ressecções intestinais), e defeitos genéticos que afetam a função da α -TTP (CLARKE; BURNETT; CROFT, 2008).

A relação entre consumo de energia e proteínas e baixa ingestão de vitamina E pode ser comprovada em pesquisa que avaliou o hábito alimentar de 255 crianças de 18 a 30 meses de idade do Egito, Quênia e México. Os autores observaram que do total das crianças avaliadas, 21,5% das egípcias, 85,1% das quenianas e 91,8% das mexicanas apresentaram ingestão de

vitamina E abaixo dos valores conforme a recomendação do IOM (CALLOWAY et al., 1993).

A obesidade pode contribuir para o desenvolvimento de DVE por meio do sequestro de α -tocoferol pelo tecido adiposo, limitando sua disponibilidade nos tecidos e no plasma (AEBERLI et al., 2006). Em estudo realizado nos Estados Unidos com 6139 crianças de 6 a 19 anos, divididas em obesas e não obesas, mostrou que as crianças obesas tinham a razão α -tocoferol / (CT + TGL) estatisticamente menor do que as crianças não obesas e valores de perfil lipídico dentro da normalidade, indicando que a obesidade pode interferir nas concentrações séricas de vitamina E (STRAUSS, 1999).

Alguns autores apontam também que existe um maior risco de desenvolver DVE em homens do que em mulheres (ASSANTACHAI; LEKHAKULA, 2007; CHENG et al., 2005; SHAHAR et al., 1999), justificado pela presença de fatores como maior ingestão de AGPI, maior número de fumantes e consumo de álcool, e maior prevalência de desenvolvimento de doenças cardiovasculares no sexo masculino (DROR; ALLEN, 2011). Porém, não foram encontrados dados que confirmassem que a DVE seja predominante também em crianças do sexo masculino.

Outro fator de risco apontado pela literatura para diversas carências nutricionais, como anemia e deficiência de vitamina A, é o baixo nível socioeconômico (WHO, 1998). Este pode ser determinante por comprometer a qualidade de alimentação e moradia, menor acesso a serviços de saúde e educação, e condições sanitárias inadequadas (GONDIM et al., 2012; MIGLIOLI et al., 2013). Contudo, estudos que avaliassem a relação direta de DVE e baixo nível socioeconômico não foram encontrados.

Chama-se atenção para o fato dos fatores associados a DVE estarem presentes como determinantes para o aparecimento de outros tipos de carências nutricionais, como anemia e deficiência de vitamina A. E apesar do Brasil ainda não ter indicadores que essa deficiência em crianças seja um problema de saúde pública, os valores de prevalência e fatores associados apontados em diversos estudos não excluem a possibilidade desse problema ser uma realidade em suas crianças.

Quadro 2. Média de α -tocoferol sérico e prevalência de deficiência de vitamina E em crianças encontrada em estudos transversais

Autores, Ano	Local	Faixa etária	Amostra	Ponto de corte	Média de α-tocoferol sérico e prevalência de DVE
Farrell, Levine, Murphy, 1978	Estados Unidos	1-12 anos	39	$\leq 0,5$ mg/dL (< 12 $\mu\text{mol/L}$)	Média α -tocoferol: $0,59 \pm 0,03$ mg/dL Prevalência DVE: 36%
Looker et al., 1988	Estados Unidos	4-5 anos	307 - 233 Mexicanos-Americanos (MA) - 62 Porto-riquenhos (PR)	$< 11,6$ $\mu\text{mol/L}$	Média α -tocoferol: - MA: $18,0 \pm 0,52$ $\mu\text{mol/L}$ - PR: $15,2 \pm 0,55$ $\mu\text{mol/L}$ Prevalência DVE: - MA: 10,6% - PR: 17,3%
Biervliet et al., 2001	Bélgica	0-4 anos	332 - 0-1 ano: 139 - 1-4 anos: 193	$< 11,6$ $\mu\text{mol/L}$	Média α -tocoferol: - Total: $20,9$ ($18,5 - 23,2$) $\mu\text{mol/L}$ - 0-1 ano: $23,2$ ($18,6 - 30,2$) $\mu\text{mol/L}$ - 1-4 anos: $18,6$ ($16,2 - 23,2$) $\mu\text{mol/L}$ Prevalência DVE: 3,6%
Kim et al., 2006	Estados Unidos	4 a 8 anos	29 - 15 meninas - 14 meninos	$< 0,5$ mg/dL (< 12 $\mu\text{mol/L}$)	Média α -tocoferol - Total: $0,45 \pm 0,25$ mg/dL - Meninas: $0,47 \pm 0,22$ mg/dL - Meninos: $0,43 \pm 0,29$ mg/dL Prevalência DVE: 69%
Fares et al., 2010	Tunísia	5-7 anos	6677 - 3278 meninas - 3399 meninos	$< 11,6$ $\mu\text{mol/L}$	Média α -tocoferol: $15,9 \pm 5,13$ $\mu\text{mol/L}$ Prevalência DVE: 25,6 %
Augusto, Cobayashi, Cardoso, 2014	Brasil	4 – 10 anos	702	$< 11,6$ $\mu\text{mol/L}$	Média α -tocoferol: $17,1$ $\mu\text{mol/L}$ Prevalência DVE: 8,8%
Cardoso et al., 2016	Brasil	10 – 14 meses	521	$< 11,6$ $\mu\text{mol/L}$	Prevalência DVE: 61,5%

2.5 CONTROLE DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA E

Entre as estratégias utilizadas para melhorar o estado nutricional de vitamina E de populações em situação de risco para essa deficiência, destacam-se a fortificação de alimentos e/ou uso de suplementos alimentares (DROR; ALLEN, 2011). Apesar de ainda realizados em uma parcela pequena da população, estudos experimentais indicaram que o aumento plasmático de

α -tocoferol pode ser alcançado por meio de fortificação de alimentos e suplementação, em forma de cápsulas ou xarope. Com base na mesma composição de vitamina E, a suplementação alimentar mostrou-se mais efetiva em relação a fortificação na melhoria da circulação de α -tocoferol, tendo também melhor aceitação (LEONARD et al., 2004).

Smuts e colaboradores (2005), realizaram estudo de base populacional com 1134 crianças de seis a 11 meses de idade na Indonésia, Vietnam, África do Sul e Peru, utilizando suplementação de vitaminas e minerais (vit. A, D, E, K, C, B-1, B2, B6, B12, niacina, folato, ferro, zinco, cobre e iodo). As crianças foram alocadas em: grupo placebo, grupo com suplementação semanal de multinutrientes, grupo com suplementação diária de multinutrientes e grupo com suplementação diária de ferro. Os resultados mostraram que o grupo com suplementação diária de multinutrientes teve um ganho de peso maior que os outros grupos, e que também foi o tratamento mais eficaz na melhora das concentrações séricas de tocoferol naqueles com baixas concentrações desse micronutriente.

No Brasil não há um programa ou estratégia governamental que tenha por finalidade específica o combate a DVE, porém algumas iniciativas de combate a carências nutricionais podem contribuir para a prevenção da deficiência desse micronutriente no público infantil. Uma dessas iniciativas é a “Estratégia Nacional para Promoção do Aleitamento Materno e Alimentação Complementar Saudável no Sistema Único de Saúde (SUS) - Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil”, lançada pelo Governo Federal em 2012 (MS, 2013). Esta estratégia tem como foco tanto a promoção do aleitamento materno quanto a alimentação saudável e a formação hábitos alimentares saudáveis desde a infância (MS, 2013), contribuindo dessa forma para a diminuição das carências nutricionais em lactentes.

Os órgãos do Ministério da Saúde responsáveis pela formulação das ações dessa estratégia incluem a Coordenação-Geral de Alimentação e Nutrição (CGAN/DAB/SAS) e Área Técnica de Saúde da Criança e Aleitamento Materno (ATSCAM/DAPES/SAS), que colaboram com iniciativas para a atenção integral da saúde das crianças. O princípio dessa estratégia baseia-se na educação permanente em saúde por ações de formação de tutores e oficinas de trabalho na Unidade Básica de Saúde (UBS), para desenvolver

atividades teóricas e práticas, leituras, discussões de texto, troca de experiência, dinâmicas de grupo, conhecimento da realidade local, sínteses e planos de ação (MS, 2013).

Países em desenvolvimento, como Bolívia e Peru, têm adotado estratégias de suplementação em pó de micronutrientes, tendo resultados eficazes na prevenção e combate as carências nutricionais (HAYES; PRONCZUK; PERLMAN, 2011). No Brasil, o Ministério da Saúde lançou em 2014 a “Estratégia de fortificação da alimentação infantil com micronutrientes em pó – NutriSUS” com objetivo de potencializar o desenvolvimento infantil integral, prevenir e controlar a anemia e outras carências nutricionais específicas na infância (MS, 2015).

O NutriSUS está sendo implantado em diversas creches de municípios brasileiros participantes do Programa Saúde na Escola (PSE), e sua estratégia baseia-se na adição de um pó com vitaminas e minerais em uma das refeições oferecidas para as crianças diariamente. O conteúdo é embalado em forma de sachê que contém 15 micronutrientes, sendo 5mg de α -tocoferol, devendo ser acrescentado e misturado às preparações alimentares. A criança deverá receber 60 sachês no período de 90 dias (média de 1 sachê/dia) (MS, 2015), garantindo assim, a ingestão diária de α -tocoferol necessária para o desenvolvimento de suas funções biológicas no organismo.

Conforme estudo realizado no Brasil, no estado do Acre, com 702 crianças de 4 a 10 anos, o percentual de DVE encontrado foi de 8,8%, utilizando ponto de corte $< 11,6 \mu\text{mol/L}$. E apesar de não se ter notificado a prevalência de DVE em lactentes brasileiros, acredita-se que esse percentual será mais elevado, pois essas crianças têm necessidades aumentadas de energia, macro e micronutrientes por decorrência do intenso período de crescimento e desenvolvimento neurológico e muscular nos primeiros anos de vida, sendo a vitamina E é de suma importância durante esse período. Diante disso, faz-se necessária a elaboração de políticas públicas que atendam a essa deficiência nesse público alvo.

Baixos valores séricos desse micronutriente em crianças vêm despertando a curiosidade de pesquisadores internacionais, que encontraram dados que indicam que tal deficiência pode vir a ser um problema de saúde pública caso não prevenida e tratada corretamente. Dessa forma, entende-se a

necessidade de realização deste estudo, a fim de identificar o estado nutricional de vitamina E em uma amostra de usuários da Atenção Básica do SUS de Goiânia, e identificar os fatores demográficos e nutricionais que estão associados as concentrações séricas desta vitamina em crianças.

Sendo assim, a pergunta norteadora que orientou essa pesquisa foi: “Quais foram os fatores associados ao estado nutricional de vitamina E em crianças usuárias da Atenção Básicas de Saúde de Goiânia-GO?”

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os fatores associados ao estado nutricional de vitamina E em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a ocorrência de DVE em amostra de crianças de 11 a 15 meses de idade utilizando diferentes pontos de corte;
- Avaliar o consumo alimentar da população estudada por meio de um recordatório de 24h;
- Avaliar a associação dos fatores socioeconômicos, demográficos, antropométricos, ambientais, bioquímicos, de aleitamento materno e consumo alimentar com a concentração sérica de α -tocoferol;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTUDO MATRIZ

O presente estudo faz parte de um ensaio clínico pragmático intitulado “Efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da deficiência de ferro e anemia em crianças menores de um ano: estudo multicêntrico em cidades brasileiras”, realizado em quatro cidades brasileiras (Goiânia, Olinda, Rio Branco e Porto Alegre) (CARDOSO et al., 2016). O estudo matriz teve por objetivo avaliar a efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da anemia e da deficiência de ferro em crianças de seis a 15 meses de idade. Em Goiânia a pesquisa foi desenvolvida nos dois modelos de atenção de rede básica de saúde: Unidades de Saúde Tradicionais e Estratégia Saúde da Família (ESF).

A cidade de Goiânia tem aproximadamente 1.300.00 habitantes, sendo cerca de 84.400 crianças menores de cinco anos de idade (BRASIL, 2010). Seu sistema de saúde contempla sete Distritos Sanitários (DS). A pesquisa teve seus dados coletados entre usuários de 12 unidades de saúde: Centro de Atenção Integral a Saúde (CAIS) Campinas, CAIS Amendoeiras, Centro(s) Integrado(s) de Assistência Médico Sanitária (CIAMS) Pedro Ludovico, CIAMS Urias Magalhães, CIAMS Jardim América, Unidade de Atenção Básica Saúde da Família (UABSF) Itatiaia, UABSF Cachoeira Dourada, UABSF Recanto do Bosque, UABSF Parque Tremendão, UABSF Guanabara I, UABSF Parque Santa Rita, e UABSF Leste Universitário. Estas unidades de saúde atenderam aos seguintes critérios: maior número de atendimentos a crianças na faixa etária necessária para o estudo; maior número de pediatras (unidades tradicionais) ou clínicos gerais (ESF) e presença de farmácia para estoque e dispensação dos sachês.

Para o cálculo amostral do estudo principal considerou-se como desfecho principal o aumento da concentração média de hemoglobina sanguínea, com poder de teste de 95% e nível de significância de 5% (bicaudal), o que resultou em um “n amostral” de 105 crianças em cada grupo (controle e intervenção) para identificar a diferença de 6 g/L entre médias de

hemoglobina, com estimativa de desvio-padrão de 12 g/L. Houve acréscimo de 30% para cobrir perdas de seguimento. O tamanho amostral final estipulado para cada grupo foi de 135 crianças em cada grupo, sendo que Goiânia necessitou do dobro da amostra por abranger os dois modelos de Atenção Básica de Saúde, totalizando 540 crianças, subdivididas em grupo controle e intervenção. As crianças do grupo intervenção receberam suplementação de vitaminas e minerais por seis meses. Os dois grupos foram comparados quando as crianças tinham idade entre 11 e 15 meses (CARDOSO et al., 2016).

4.2 DELINEAMENTO E AMOSTRAGEM

A pesquisa em questão trata-se de um estudo transversal com crianças do grupo controle, de ambos os sexos, atendidas na rede de Atenção Básica de Saúde, moradoras da área de abrangência das UBS de Goiânia-GO selecionadas para o estudo. As crianças excluídas da pesquisa foram as portadoras de malária, HIV+, tuberculose, hemoglobinopatias, gemelares, ou que estivessem anêmicas ou em tratamento da anemia no momento do recrutamento (CARDOSO et al., 2016).

Foram inscritas 303 crianças do grupo controle, porém foram contabilizadas 75 perdas, com 62 crianças sem realizar a coleta de sangue por desistência dos pais, 5 perdas de contato com o responsável pela criança, 3 crianças que ultrapassaram a faixa etária estudada, e 5 crianças que não tiveram amostra de sangue suficiente para avaliação do α -tocoferol sérico, resultando em uma amostra final de 228 crianças. O cálculo amostral a *posteriori* mostrou que esse tamanho de amostra permitiu identificar uma associação das variáveis independentes com as categorias de DVE, e apresentou um poder de 80%, com α de 0,05 e um β de 0,20 (KOLB; CUMMINGS, 1988).

4.3 COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada nos meses de junho de 2012 a fevereiro de 2013. Uma equipe previamente capacitada e padronizada composta por nutricionistas e alunos de graduação em Nutrição aplicaram os questionários e aferiram as medidas antropométricas (HABICHT et al., 1974).

A busca pelas crianças foi feita nas unidades de saúde, sala de espera de consultas com pediatras ou clínicos gerais, sala de vacina ou visitas domiciliares. O contato inicial se deu com pais ou responsáveis pelas crianças, sendo aplicado um questionário de triagem (Apêndice B), e caso a criança fosse elegível para o estudo era feita a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice C).

Posteriormente, foi realizada uma entrevista utilizando questionário estruturado para se obter as informações sobre fatores demográficos, socioeconômicos, maternos e familiares, condições de saúde da criança, aleitamento materno, alimentação, morbidades e uso de suplementos (Apêndice D). A coleta de sangue foi agendada no dia da entrevista, e realizada em um prazo máximo de duas semanas.

4.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

A avaliação antropométrica foi realizada conforme procedimentos padronizados por Lohman, Roche, Martorel (1988), e considerou o valor médio de duas medições. Para aferição da massa corporal foi utilizada balança eletrônica da marca WISO, modelo W-835, com capacidade de 180 kg e graduação de 100g. A medida de massa corporal foi obtida com a criança no colo do responsável e em seguida, foi descontado o peso do mesmo. O comprimento foi avaliado por meio de infantômetro portátil da marca Sanny, modelo ES-2000, com extensão de um metro e precisão de 1 mm. As crianças foram medidas em decúbito dorsal em superfície lisa e o valor foi registrado em centímetros.

Avaliou-se o estado nutricional pelos índices Comprimento/Idade (C/I) e Índice de Massa Corporal/Idade (IMC/I), expressos na forma de *escore z*, calculados no programa WHO Anthro versão 3.2.2 (WHO, 2011).

4.5 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

As amostras de sangue foram coletadas nas Unidades de Saúde, no Laboratório Padrão ou em visita domiciliar, conforme a preferência do responsável e/ou disponibilidade do local. Foram coletadas amostras de até 10 mL de sangue venoso das crianças, no início da manhã, com jejum mínimo de três horas.

O volume de sangue obtido foi distribuído em dois tubos de ensaio: a) tubo seco para obtenção do soro; b) tubo com ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) para obtenção do plasma. Após centrifugação e separação do plasma e do soro, ambos foram congelados e mantidos a -70°C , e transportados para o laboratório de Nutrição Humana do Departamento de Nutrição (FSP/USP) (CARDOSO et al., 2011).

As análises da concentração sérica de α -tocoferol e retinol foram realizadas por cromatografia líquida de alto desempenho em fase reversa (HPLC-110, Hewlett-Packard, Estados Unidos) no Vitae – Cromatografia Líquida em Análises Clínicas Ltda, em São Paulo. A concentração de hemoglobina sanguínea foi feita no momento da coleta, utilizando hemoglobímetro portátil da marca Hemocue. A determinação de proteína C reativa foi feita por método ultrasensível (quimioluminescência), conforme recomendação da OMS (WHO, 2001). A determinação da concentração sérica de ácido fólico e vitamina B12 foi realizada por técnica de quimioluminescência (kits PerkinElmer, Wallac Oy, Turku, Finland).

4.6 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

O consumo alimentar foi avaliado por meio de recordatório de 24 horas, aplicado no dia da coleta de dados. A mãe ou responsável foi interrogada com

a seguinte pergunta: “Quais alimentos ou bebidas a criança comeu ou bebeu no dia anterior?”, do momento em que acorda até a hora de dormir, e se costuma consumir ou beber algo durante a noite. As quantidades de alimentos relatadas em medidas caseiras foram convertidas em equivalentes em gramas ou mililitros, utilizando-se tabelas específicas (NEPA; 1996; REIS; NAVES, 1998). As preparações citadas foram desmembradas em ingredientes para cálculo de valor nutricional, e os alimentos industrializados que não constavam nas tabelas foram inseridos no programa considerando as informações nutricionais do fabricante.

O volume de leite materno ingerido foi calculado por meio da equação proposta por Drewett e colaboradores (1989). Esta considera o número de mamadas em 24 horas combinado com a idade da criança, oferecendo o volume de leite materno consumido ($Y = 489 + 0,63X_1 + 13,45X_2$). Nessa equação o Y representa o volume do leite materno, X1 é a idade da criança em dias e X2 é o número de mamadas).

Para o cálculo dos recordatórios foi utilizado o software *Dietwin Profissional Plus* utilizando, preferencialmente, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (NEPA, 2011), cujos dados foram complementados com a Tabela de Composição de Alimentos (PHILIPPI, 2013). Os alimentos industrializados que não tinham dados relatados nas tabelas foram inseridos no software, conforme informações fornecidas pelo fabricante. Tal cálculo permitiu conhecer a quantidade de vitamina E (mg) ingerida pelas crianças.

Para se anular o efeito da energia sobre o nutriente, utilizou-se o método do nutriente residual, ajustando o consumo de α -tocoferol pelo consumo energético (WILLETT; STAMPFER, 1998). Para realização do cálculo, transformou-se a variável consumo α -tocoferol em logaritmo, pois a mesma não apresentava distribuição normal, e posteriormente utilizou-se seu exponencial após o ajuste da energia.

O cálculo do nutriente ajustado foi realizado por meio das equações descritas abaixo (WILLETT; STAMPFER, 1998):

1) Determinação do nutriente estimado (Ye)

$$Y_e = \beta_0 + \beta_1 * \text{energia individual}$$

OBS: β_0 e β_1 são os coeficientes da regressão linear

2) Determinação do resíduo (Yr)

$$Y_r = Y_o - Y_e$$

OBS: Y_o é o nutriente bruto e Y_e , o nutriente estimado

3) Determinação da constante (Yc)

$$Y_c = \beta_0 + \beta_1 * \text{energia média do grupo}$$

4) Determinação do nutriente ajustado (Ya)

$$Y_a = Y_r + Y_c$$

Para se calcular a ingestão de óleo dessas crianças, foi utilizada a recomendação de 3g de óleo vegetal para cada 100g de alimento cozido, conforme recomendação do Guia Alimentar para Crianças Menores de Dois Anos (MS, 2005).

4.7 VARIÁVEIS ESTUDADAS

Variável dependente

A variável dependente foi a concentração sérica de α -tocoferol em $\mu\text{mol/L}$. Adicionalmente, a determinação da DVE nas crianças foi feita para concentrações séricas de α -tocoferol abaixo de $11,6 \mu\text{mol/L}$ (IOM, 2000).

Variáveis independentes

Demográficas:

- Sexo da criança: masculino, feminino;
- Idade da criança: em meses;
- Idade da mãe: em anos;
- Estado civil materno: com companheiro, sem companheiro;
- Escolaridade materna: anos de estudo.

Socioeconômica

- Renda per capita: em reais;

- Recebimento de Bolsa Família e/ou outros benefícios financeiros: sim, não;

Condições de habitação:

- Tratamento de água para beber: inadequado (não tratada ou clorada) e adequado (filtrada, fervida ou mineral).

Condições de nascimento:

- Número de consultas pré-natal;
- Peso ao nascer (kg);
- Comprimento ao nascer (cm).

Aleitamento materno:

- Em aleitamento materno no período da coleta de dados: não, sim.

Estado Nutricional:

- Comprimento/Idade (C/I): expresso em escore z;
- Índice de Massa Corporal/Idade (IMC/I): expresso em escore z, e classificado em magreza (< -2), eutrofia (≥ -2 e $\leq +1$), risco de sobrepeso ($> +1$ e $\leq +2$), sobrepeso e obesidade ($> +2$) (WHO, 2006).

Avaliação bioquímica:

- Hemoglobina (hemocue - g/L);
- Proteína C-reativa (mg/L);
- Retinol ($\mu\text{mol/L}$);
- Ácido fólico (nmol/L);
- Vitamina B12 (pmol/L).

Alimentação (cálculo do recordatório de 24h):

- Consumo diário de energia (kcal);
- Consumo de carboidratos, proteínas, lipídeos e α -tocoferol ajustados pelo consumo energético;
- Consumo de óleo vegetal (g).

4.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram digitados com dupla entrada no programa *Epi-Info* 6.04 e posteriormente avaliados no programa estatístico *Stata*TM 12.0.

A verificação de normalidade das variáveis foi feita por meio do teste de *Shapiro Wilk*. As variáveis categóricas foram expressas em frequências absolutas e relativas, as variáveis contínuas com distribuição normal em média e desvio-padrão, e variáveis contínuas com distribuição não normal em mediana e intervalo interquartil (percentil 25 - 75).

As associações das variáveis pesquisadas com a DVE foram analisadas por meio de teste de qui-quadrado de *Pearson* para variáveis categóricas, teste T de *Student* para variáveis contínuas com distribuição normal, e teste de *Mann-Whitney* variáveis contínuas sem distribuição normal.

A fim de se determinar o efeito das variáveis independentes sobre o desfecho estudado, foram utilizados modelos de regressão linear múltiplos com seleção hierárquica de variáveis, como proposto por Victora et al., (1997). Nesse tipo de modelo as variáveis foram agrupadas em blocos e ordenadas conforme sua atuação sobre o desfecho. Foi elaborado *a priori* um modelo teórico de determinação da DVE, conforme descrito na Figura 3.

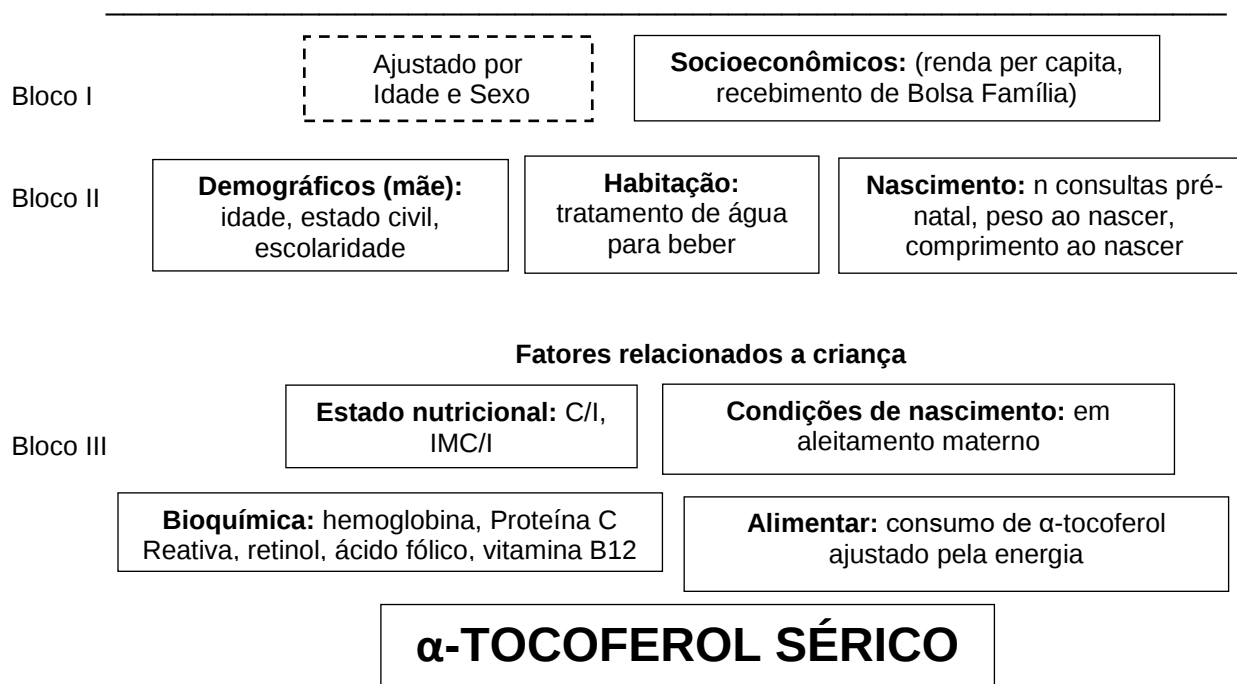


Figura 3. Modelo teórico hierarquizado na determinação de concentração sérica de α -tocoferol em lactentes atendidos na Atenção Básica de Saúde de Goiânia-GO.

Como a variável desfecho não teve distribuição normal, a concentração sérica de α -tocoferol foi convertida em logaritmo. A partir daí a avaliação da relação entre as variáveis independentes com o desfecho foi ajustada por sexo e idade da criança, e iniciou-se por meio do modelo de regressão linear simples, selecionando aquelas com $p \leq 0,20$. Em seguida, as variáveis selecionadas foram testadas no modelo múltiplo a partir do bloco mais distal para o mais proximal, mantidas nos modelos seguintes as variáveis com valores de $p < 0,10$ no teste de Wald. As variáveis que apresentaram $p > 0,10$ foram testadas individualmente para verificar se sua presença no modelo teria interferência em mais de 10% no coeficiente beta. Considerou-se fator associado à concentração sérica de α -tocoferol as variáveis do modelo final que apresentaram valor de $p < 0,05$.

4.9 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto matriz foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo com protocolo de nº 2291/2013 (Anexo B) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (Anexo C), com o protocolo de nº 065/12. A coleta de dados foi precedida da anuência da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia, Goiás (Anexo D). O projeto está em conformidade com a Resolução 196 de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

O TCLE foi assinado pelo responsável pela criança após explicação dos objetivos e benefícios da pesquisa, sendo também informados sobre a possibilidade de desistência de participação na pesquisa em qualquer momento da coleta de dados, sem prejuízo no acompanhamento no serviço de saúde.

Os resultados dos exames bioquímicos foram entregues aos pais ou responsáveis pela criança, os quais foram orientados a procurar o serviço de saúde para avaliação médica caso a criança apresentasse dados bioquímicos ou antropométricos alterados.

4.10 FOMENTO

O estudo foi financiado pelo Ministério da Saúde/Coordenação-Geral de Alimentação e Nutrição, com gerência administrativo-financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo nº 552747/2011-4). Foi concedida à mestranda Bolsa de Formação pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).

REFERÊNCIAS

- AEBERLI, I.; MOLINARI, L.; SPINAS, G.; LEHMANN, R.; L'ALLEMAND, D.; ZIMMERMANN, M. B. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 84, n. 4, p. 748–755, 2006.
- ANTONAKOU, A.; CHIOU, A.; ANDRIKOPOULOS, N. K.; BAKOULA, C.; MATALAS, A. L. Breast milk tocopherol content during the first six months in exclusively breastfeeding Greek women. **European Journal of Nutrition**, Darmstadt, v. 50, n. 3, p. 195-202, 2011.
- APARICIO, J. M.; BELANGER-QUINTANA, A.; SUAREZ, L.; MAYO, D.; BENITEZ, J.; DIAZ, M.; ESCOBAR, H. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: case report and review of the literature. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, New York, v. 33, n. 2, p. 206–210, 2001.
- ASSANTACHAI, P.; LEKHAKULA, S. Epidemiological survey of vitamin deficiencies in older Thai adults: implications for national policy planning. **Public Health Nutrition**, Cambridge, v. 10, n. 1, p. 65–70, 2007.
- AUGUSTO, R. A.; COBAYASHI, F.; CARDOSO, M. A. Associations between low consumption of fruits and vegetables and nutritional deficiencies in Brazilian schoolchildren. **Public Health Nutrition**, Cambridge, v.18, n. 5, p. 927-935, 2014.
- BIERI, J. G., FARRELL, P. M. Vitamin E. **Vitamines & Hormones**, Philadelphia, v. 34, p. 31, 1976.
- BIERI, J. G.; L. TEETS, B. BELAVADY.; ANDREWS, E. L. Serum vitamin E levels in a normal adult population in the Washington, D.C. area. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, Malden, v. 117, p. 131-133, 1964.
- BIERVLIET, S. V.; BIERVLIET, J. P. V.; BERNARD, D.; MATTHYS, M.; VERCAEMST, R.; BLATON, V. Serum α -Tocopherol and Selenium in Belgian Infants and Children. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 79, n. 2, p 115-120, 2001.
- BORGES, C. A.; CLARO, R. M.; MARTINS, A. P. B.; VILLAR, B. S. Quanto custa para as famílias de baixa renda obterem uma dieta saudável no Brasil? **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 137-148, 2015.
- BRAMLEY, P. M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F. J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H. E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P. J. A.; WAGNER, K. H. Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 80, n. 7, p. 913–938, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 54, de 12 de Novembro de 2012**: ANVISA. Disponível em: <hppt: portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect>. Acesso em: 23 fev. 2016.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Censo 2010**: IBGE. Disponível em: <hppt:censo2010.ibge.gov.br>. Acesso em: 06 jun. 2015.

CALLOWAY, D. H.; MURPY, S. P.; BEATON, G. H.; LEIN, D. Estimated vitamin intakes of toddlers: predicted prevalence of inadequacy in village populations in Egypt, Kenya, and Mexico. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 58, n. 3, p. 376-384, 1993.

CARDOSO, M. A.; AUGUSTO, R. A.; BORTOLINI, G. A.; OLIVEIRA, C. S M.; TIETZMAN, D. C.; SEQUEIRA, L. A. S.; et al. Effect of Providing Multiple Micronutrients in Powder through Primary Healthcare on Anemia in Young Brazilian Children: A Multicentre Pragmatic Controlled Trial. **Plos One**, San Francisco, v. 14, n p. 1-13, 2016.

CHENG, W. Y.; FU, M. L.; WEN, L. J.; CHEN, C.; PAN, W. H.; HUANG, C. J. Plasma retinol and a-tocopherol status of the Taiwanese elderly population. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 14, n. 3, p. 256–262, 2005.

CLARKE, M. W.; BURNETT, J.; CROFT, K. D. Vitamin E in human health and disease. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Science**, Boca Raton, v. 45, n. 5, p. 417–450, 2008.

COHN, J. S.; MCNAMARA, J. R.; COHN, S. D.; ORDOVAS, J. M.; SCHAEFER, E. J. Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *Journal of Lipid Research*, Bethesda, v. 29, n. 4, p. 469-479, 1988.

COHN, W. Bioavailability of vitamin E. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 51, p. S80-84, 1997.

DEBIER C. Vitamin E during pre- and postnatal periods. **Vitamines & Hormones**, Philadelphia, v. 76, n. 4, p. 357-373, 2007.

DREVON, C. A. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. *Free Radical Research Communications*, New York, v. 14, n. 4, p. 229-246, 1991.

DREWEL, B. T.; GIRAUD, D. W.; DAVY, S. R.; DRISKELL, J. A. T. Less than adequate vitamin E status observed in a group of preschool boys and girls living in the United States. **Journal of Nutrition Biochemistry**, Stonehan, v. 17, n. 2, p. 132–138, 2006.

DREWETT, R. F.; WOOLRIDGE, M. W.; JACKSON, D. A.; IMONG, S. M.; MANGKLABRUKS, A.; WONGSAWASDI, L.; CHIOWANICH, P.; AMATAYAKUL, K.; BAUM, J. D. Relationships between nursing patterns, supplementary food intake and breast-milk intake in a rural Thai population. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 20, n. 01, p. 13-23, 1989.

DROR, D. K.; ALLEN, L. H. Vitamin E deficiency in developing countries. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 32, n. 2, p. 124-143, 2011.

FARES, S.; CHAHED, M. K.; FEKI, M.; BEJI, C.; RAISSAC, P.; ATI, K. E.; KAABACHI, N. Status of vitamins A and E in schoolchildren in the centre West of Tunisia: a population-based study. **Public Health Nutrition**, Cambridge, v. 14, n. 2, p. 255–260, 2010.

FARRELL, P. M.; BIERI, J. G. Megavitamin E supplementation in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 28, p. 73-81, 1975.

FARRELL, P. M.; LEVINE, S. L.; MURPHY, M. D.; ADAMS, A. J. Plasma tocopherol levels and tocopherol-lipid relationships in a normal population of children compared to healthy adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 31, p. 1720–1726, 1978.

GALLAGHER, M. L. Os nutrientes e seu metabolismo. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause, alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 3, p. 39-143.

GONDIM, S. S. R.; DINIZ, A. S.; SOUTO, R. A.; BEZERRA, R. G. S.; ALBUQUERQUE, E. C.; PAIVA, A. A. Magnitude, tendência temporal e fatores associados à anemia em crianças do Estado da Paraíba. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 649-656, 2012.

HABICHT, J. P.; MARTORELL, R.; YARBROUGH, C.; MALINA, R. M. & KLEIN, R. E., 1974. Height and weight standards for preschool children: how relevant are ethnic differences in growth potential? **Lancet**, London, v. 1, n. 7858, p. 611-615, 1974.

HARRIS, P. L.; HARDENBROOK, E. G.; DEAN, F. P.; CUSACK, E. R.; JENSEN, J. L. Blood tocoferol values in normal human adults and incidence of vitamin E deficiency. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, Malden, v. 107, p. 381, 1961.

HAYES, K.; PRONCZUK, A.; PERLMAN, D. Vitamin E in fortified cow milk uniquely enriches human plasma lipoproteins. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 74, n. 2, p. 211–218, 2001.

HORWITT, M. K.; HARVEY, C. C.; DAHM, C. H.; SEARCY, M. T. Relationships between tocopherol and serum lipid concentrations for determination of nutritional adequacy. **Annals of New York Academy of Sciences**, New York, v. 203, p. 223– 236, 1972.

HULLEY, S. P.; CUMMINGS, S. R. **Designing Clinical Research an Epidemiologic Approach**. Baltimore: Williams & Wilkin; 1988.

INSTITUTE OF MEDICINE, FOOD AND NUTRITION BOARD. **Vitamin E. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids.** Washington D.C, 2000: 186–283.

JORGE, N.; SOARES, B. B. P.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, C. R. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 947-951, 2005.

KANG, M. K.; LIN, Y. C.; YEH, W. H.; PAN W. H. Vitamin E status and its dietary determinants in Taiwanese: Results of the Nutrition and Health Survey in Taiwan 1993–1996. **European journal of nutrition**, Darmstadt, v. 43, n. 2, p. 86–92, 2004.

KIM, Y. M. S.; KARINA, R.; LORA, M. S.; DAVID, W.; GIRAUD, M. S.; DRISKELL, J. A. Nonsupplemented Children of Latino Immigrants Have Low Vitamin E Intakes and Plasma Concentrations and Normal Vitamin C, Selenium, and Carotenoid Intakes and Plasma Concentrations. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 106, n. 3, p. 385-391, 2006.

KOLB, E.; SEEHAWER, J. The development of the immune system and vitamin levels in the bovine fetus and neonate: a review including the effect of vitamins on the immune system. **Tierärztliche Umschau**, Constance, v. 53, n. 12, p. 723–730, 1998.

LEONARD, S. W.; GOOD, C. K.; GUGGER, E. T.; TRABER, M. G. Vitamin E bioavailability from fortified breakfast cereal is greater than that from encapsulated supplements. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 1, p. 86–92, 2004.

LIMA, M. S. R.; DIMENSTEIN, R.; RIBEIRO, K. D. S. Vitamin E concentration in human milk and associated factors: a literature review. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.90, n.5, p. 440-448, 2014.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTOREL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Illinois: Human Kinetics Books; 1988.

LOOKER, A. C.; UNDERWOOD, B. A.; WILEY, J.; FUIWOOD, R.; SEMPOS, C. T. Serum α -tocopherol levels of mexican americans, cubans, and puerto ricans aged 4-74 y. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 50, n. 3, p. 491-496, 1989.

MARQUEZ, M.; YÉPEZ, C. E.; SÚTIL-NARANJO, R.; RINCÓN, M. Aspectos básicos y determinación de las vitaminas antioxidantes E y A. **Investigacion Clínica**, Maracaibo, v. 43, n. 3, p. 191-204, 2002.

MEYDANI, S. N.; BARKLUND, M. P.; LIU, S.; MILLER, R. A.; CANNON, J. G.; MORROW, F. D.; ROCKLIN, R.; BLUMBERG, J. B. Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 52, n. 3, p. 557-563, 1990.

MIGLIOLI, T. C.; FONSECA, V. M.; GOMES JUNIOR S. C.; LIRA, P. I. C.; BATISTA -FILHO. M. Deficiência de Vitamina A em mães e filhos no Estado de Pernambuco. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 5, p. 1427-1440, 2013.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia Alimentar para Crianças menores de 2 anos**. Brasília, DF: MS, 2005, 152 p.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Fortificação da alimentação infantil com micronutrientes em pó – NutriSUS, 2015**. Brasília, DF: MS. Disponível em: http://dab.saude.gov.br/portaldab/ape_pcan.php?conteudo=nutris us. Acesso em: 20 Jun. 2015.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. PORTARIA Nº 1.920, DE 5 DE SETEMBRO DE 2013. **Institui a Estratégia Nacional para Promoção do Aleitamento Materno e Alimentação Complementar Saudável no Sistema Único de Saúde (SUS) -Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil**. Brasília, DF: MS. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br>. Acesso em: 20 Jun. 2015.

NEPA - NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. Campinas: UNICAMP, 2011. 164p.

NEPA - NÚCLEO DE ESTUDOS EM PESQUISA E ALIMENTAÇÃO. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções**. Campinas: UNICAMP, 1996.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommended dietary allowances**. Washington, 1989. 506 p.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos**. Suporte Para Decisão Nutricional. 4. ed. São Paulo: Editora Manole. 2013. 174p.

REIS, M. S.; NAVES, M. M. V. Medidas caseiras. In: _____. **Manual de Nutrição e Dietética**. 2ª ed. Goiânia: Cegraf, UFG, 1998, 172p.

RONCADA, M. J. Vitaminas lipossolúveis. In: DUTRA DE OLIVEIRA, J. E; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2000, p. 167-169.

SANIBAL, E. A.; MANCINI-FILHO, J.; Alterações Físicas, Químicas e Nutricionais de Óleos Submetidos ao Processo de Fritura. **Caderno de Tecnologia de Alimentos & Bebidas**, São Paulo, v. 64, p. 48-54, 2002.

SBP - SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Manual de Orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola**. Sociedade Brasileira de Pediatria. Rio de Janeiro, RJ: SBP, 2008. 120p.

SCHWENKE, D. C. Antioxidants, dietary fat saturation, lipoprotein oxidation and atherogenesis. **Nutrition**, Burbank, v. 12, n. 5, p. 377-379, 1996.

SHAHAR, S.; EARLAND, J.; POWERS, H. J.; RAHMAN, S. A. Nutritional status of rural elderly Malays: dietary and biochemical findings. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v. 69, n. 4, p. 277–284, 1999.

SHEKELLE, P. G.; MORTON, S. C.; JUNGVIG, L. K.; UDANI, J.; SPAR, M.; TU, W. J.; SUTTORP, M.; COULTER, I.; HARDY, M. Effect of supplemental vitamin E for the prevention and treatment of cardiovascular disease. **Journal of General Internal Medicine**, Philadelphia, v. 19, n. 4, p. 380-389, 2004.

SMUTS, C. M.; LOMBARD, C. J.; BENADE, A. J.; DHANSAY, M.; BERGER, J.; HOP LE, T.; LOPEZ DE ROMANA, G.; UNTORO, J.; KARYADI, E.; ERHARDT, J.; GROSS, R. Efficacy of a foodletbased multiple micronutrient supplement for preventing growth faltering, anemia, and micronutrient deficiency of infants: the four country IRIS trial pooled data analysis. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 135, n. 3, p. 631S–638S, 2005.

SOKOL, R. J.; REARDON, M. C.; ACCURSO, F. J.; STALL, C.; NARKEWICZ, M.; ABMAN, S. H.; HAMMOND, K. B. Fat-soluble-vitamin status during the first year of life in infants with cystic fibrosis identified by screening of newborns **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 50, n. 5, p. 1064-1071, 1989 .

SPANNAUS-MARTIN, D. J.; COOK, L. R.; TANUMIHARDJO, S. A.; DUITSMAN, P. K.; OLSON, J. A. Vitamin A and vitamin E statuses of preschool children of socioeconomically disadvantaged families living in the midwestern United States. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 51, n. 12, p. 864 -869, 1997.

STRAUSS, R. S. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and β -carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). **Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 134, n. 2, p. 160-165, 1999.

THURNHAM, D. I.; DAVIES, J. A.; CRUMP, B. J.; SITUNAYAKE, R. D.; DAVIS, M. The use of different lipids to express serum tocopherol: lipid ratios for the measurement of vitamin E status. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 23, n. 5, p. 514–520, 1986.

TRABER, M. G.; SIES, H. Vitamin E I in humans: Demand and Delivery. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 16, p. 321-317, 1996.

TRABER, M. G. Vitamin E regulatory mechanisms. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 27, p. 347–362, 2007.

TRABER, M. G. Vitamin E. In: SHILS, M. E.; SHIKE, M.; ROSS, A. C.; CABALLERO, B.; COUSINS, R. J. **Modern Nutrition in Health and Disease**, 1. ed. Philadelphia: Lipincott, Williams, & Wilkins; 2006: p. 396–411.

TRABER, M. G.; KAMAL-ELDIN, A. Oxidative stress and vitamin E in anemia. In: KRAEMER, K.; ZIMMERMANN, M. B. **Nutritional Anemia Basel: Sigh and Life Press**; 2007: 155–88 p.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (United States). **National Nutrient Database for Standard Reference Release, Nutrients: Vitamin E (alpha-tocopherol) (mg), Measured by: 100 g**. Acesso em: 16. Jun. 2015.

VATASSERY, G. T.; KREZOWSKI, A. M.; ECKFELDT, J. H. Vitamin E concentrations in human blood plasma and platelets. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 37, n. 6, p. 1020–1024, 1983.

VICTORA, C. G.; HUTTLY, S. R.; FUCHS, S. C.; OLINTO, M. T. A. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. **International Journal of Epidemiology**, London, v. 26, n. 1, p. 224–227, 1997.

WILLETT, W.; STAMPFER M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: WILLETT W. **Nutritional epidemiology**. 2 ed. New York: Oxford University Press, 1998. 514p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention, and Control. A guide for programme managers**. Geneva: WHO; 2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Anthro (version 3.2.2, January 2011) and macros**. <http://www.who.int/childgrowth/software/es/index.html>. Acessado em: 28. Jul. 2014.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Child Growth Standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development**. Geneva: World Health Organization, 2006. 138p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Vitamin and mineral requirements in human nutrition**: report of a joint FAO/WHO expert consultation. Bangkok, Thailand: WHO, 1998.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO

O manuscrito apresentado será submetido ao periódico *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, (ISSN: 0946-672X), cujo Qualis-Capes na área de Nutrição é B1, e fator de impacto segundo ISI/Web of Knowledge, é 2,371. As instruções aos autores para submissão de manuscritos neste periódico estão apresentadas no Anexo E.

Title: Factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants users of Public Health Center in Goiania, State of Goiás, Brazil

Short title: Factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants.

Author's names and affiliations:

- Gabriela Cardoso Moraes – Federal University of Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brazil

Master Graduate Courses in Nutrition and Health / UFG

gabriela.camo@hotmail.com

- Maria Claret Costa Monteiro Hadler - Federal University of Goiás [UFG], Goiânia, Goiás, Brazil

Associate Professor, School of Nutrition (UFG)

claretheadler@uol.com.br

Maria do Rosário Gondim Peixoto - Federal University of Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brazil

Associate Professor, School of Nutrition (UFG)

mrg.peixoto@uol.com.br

ENFAC *Working Group**

* The complete list of the ENFAC Working Group members can be found in the Acknowledgments.

Author's correspondence and permanent address:

Gabriela Cardoso Moraes

School of Nutrition, Federal University of Goiás

Rua 227 Qd. 68 s/nº - Leste Universitário - Goiânia - Goiás - Brasil - CEP: 74.605-080

+55 (62) 3209-6270 / +55 (62) 98134-7678

gabriela.camo@hotmail.com

INTRODUCTION

Vitamin E is a fat-soluble vitamin, likewise an antioxidant function in the body [1], also the maintenance of the immune system by altering the flow of immune cells membrane, which prevents the self-destruction of neutrophils during oxidative stress [2, 3, 4]. Their main food sources are vegetable oils [sunflower, canola and corn], nuts [almond, hazelnut, pistachio, Brazil nut], whole grains and dark green vegetables [5].

Vitamin E deficiency (VED) is diagnosed when the concentration of α -tocopherol is below $<11,6 \mu\text{mol/L/L}$ [6]. The main reasons presented as causes for their appearance are low intake of foods containing vitamin E [7], the existence of obesity [8, 9] and adverse socioeconomic conditions [10, 11], furthermore the presence of fat malabsorption syndromes, and genetic defects in the function of the α -tocopherol transfer protein (α -TTP) [12]. In the long-term VED can cause both neurological and muscle damage, such as progressive peripheral neuropathy [13], ataxia and muscle weakness [14], and retinal damage likely to cause blindness [15], in both adults and children, particularly those with less than 24 months of age.

In developed countries such as the United States, 307 children aged 4 to 5 years had a prevalence of 13,9% VED [16], while in Tunisia, 6677 children aged 5 to 7 years showed prevalence of DVE 25 6% [17], in both cases the cut-off point was $< 11,6 \mu\text{mol/L}$.

In addition, knowing that low serum concentrations of α -tocopherol may bring harm the health of children, and studies that assess the factors associated with this condition in Brazil are still scarce those who investigated the nutritional status of vitamin E in children under two years of age. The aim of this research is to evaluate the factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants users of the Public Health Center in Goiânia-GO.

MATERIAL AND METHODS

First of all, the data provided in this study are part of a pragmatic clinical trial named "Effectiveness of home fortification with vitamins and minerals in

iron deficiency prevention and anemia in children under one year of age: a multicentric study in Brazilian cities" carried out in four Brazilian cities (Goiânia, Olinda, Rio Branco and Porto Alegre) [18]. This study was cross-sectionally designed and covered a sample of 288 children 11 to 15 months of primary research control group of both genders, attending the Public Health Center [PHN] as well as residents of the area covered by Public Health Center (PHN) in Goiânia-GO were selected for the study. Children with malaria, HIV+, tuberculosis, hemoglobinopathies, twins, anemic ones or being treated for anemia at the moment of recruitment were excluded.

The sample calculation carried out for the main study expected a 210 children sample to the center of Goiânia, with 30% addition to possible losses and refusals resulting in a sample of 270 children. In the control group 303 children were enrolled, 75 losses (62 failed collecting blood due to parental refusal, five contact rupture with people in charge of the children, three exceeded the age group covered, and five who did not have enough blood sample for evaluation of serum α -tocopherol), and a final sample of 228 children. Subsequent calculations showed that this sample size enables to identify an association of about 0,20 between the independent variables and the outcome, with α of 0,05 and β of 0,20 [19].

Data collection was accomplished from June 2012 to February 2013 by a previously trained and standardized team staffed with nutritionists and undergraduate nutrition students. The recruitment of children took place in health unities by selecting the ones who have seen pediatricians or general practitioners frequently, in vaccine room or through home visits. Once the first contact with the parents or guardians of the children was made a screening questionnaire was applied. In case the child was eligible for the study the responsible person would therefore sign the Free Informed Consent Form. Next, a structured questionnaire was applied in order to obtain information on demographic, socioeconomic, maternal and family health of the child, breastfeeding, food consumption, morbidity and use of supplements. Blood collection was scheduled on the day of the interview, and held in a maximum period of two weeks.

Body mass and height measurement were performed according to standard procedures [20], therefore the average of the two measurements was

considered. In order to measure body weight a WISO electronic scale was used, W-835 model and with a capacity of 180 kg and 100 g graduation. and was obtained with the child on parents' cleavages and then the same mass was deducted. The length was assessed by Sannyportable infantometer (model ES-2000, Sanny, Los Angeles, USA), ES-2000 model, with a length of one meter and a precision of 1 mm. The children were measured in supine position on a smooth surface and the value was recorded in centimeters. To assess the nutritional status evaluated the indexes length/height-for-age (HAZ), and Body Mass Index/age (BMI/A), expressed as z score, calculated at the WHO Anthro software version 3.2.2 [21].

Additionally, blood collection was carried out in the Health Units, enlisted laboratory or home visits, according to parents' or guardians' preferences. Samples up to 10 mL of venous blood of children were collected early in the morning, with a minimum of three hours fasting. Analysis of serum retinol and α -tocopherol were performed by high performance liquid chromatography in reverse phase (HPLC-1100, Hewlett-Packard, Palo Alto, California, United States). The blood hemoglobin concentration was observed at the time of the collection, using the HemoCue portable hemoglobinometer mark [Hb 301, Angelhon, Sweden]. The determination of C-reactive protein was made by ultrasensitive method (IMMAGE Immunochemistry System, Beckman Coneta, Brea, United States) [22]. The determination of serum folic acid and vitamin B12 was performed by chemiluminescence)PerkinElmer kits, Wallac Oy, Turku, Finland).

Dietary intake was assessed by a 24-hour recall, applied according to the technique of multiple passes [23, 24]. The quantities of food have been reported in household measures and converted into equivalent in grams or milliliters, using specific tables [25, 26]. The calculation of breast milk volume considered the number of feedings in 24 hours combined with the age of the child, providing the volume of consumed milk ($Y = 489 + 0,63X1 + 13,45X2$) and Y is breast milk volume, X1 is the child's age in days and X2 is the number of feedings [27].

The dietary records were calculated in *DietWin Professional Plus* software preferably based on the Brazilian Table of Food Composition (TACO) [28]. Through this calculation the energy intake, carbohydrates, proteins, lipids

and vitamin E for children were evaluated. As for eliminating the effect of energy on the nutrient, the residual nutrient method was used for adjusting consumption carbohydrates, proteins, lipids and α -tocopherol by energy intake [29]. The calculation of the oil intake was carried out as recommended by the Food Guide for Children Under Two Years [30].

Moreover data were double entered in *Epi-Info 6.04*, and subsequently evaluated in the *Stata™ 12.0* statistical program. Normality verification of variables was obtained by using the *Shapiro-Wilk* test. Categorical variables were indicated in absolute and relative frequencies, the continuous variables with normal distribution were indicated as though average and standard deviation, including continuous variables with non-normal distribution expressed as median and interquartile range (percentile 25-75). The associations of variables studied with the VED were analyzed by chi-square test of *Pearson* for categorical variables, student's T test for continuous variables with normal distribution, and *Mann-Whitney* test continuous variables without normal distribution.

The dependent variable was the serum concentration of α -tocopherol in $\mu\text{mol/L}$, and the determination of VED was done in children with serum α -tocopherol $<11.6 \mu\text{mol/L}$ [6]. To determine the effect of independent variables on the outcome studied, we have used a multiple linear regression model with hierarchical selection of variables [31]. A theoretical model was drawn up and grouped into three blocks, the variables were distributed as its effect on the outcome serum α -tocopherol.

The first set included socioeconomic variables [per capita income and receiving Child Benefit], the second one by demographic variables [maternal age, maternal marital status and maternal education background], housing [water treatment for drinking] and birth [number pre-natal consultations, birth weight, birth length], finally the third set covered variables related to the child, such as anthropometric variables (content HAZ and BMI/Age), breastfeeding, biochemical (hemoglobin, C-reactive protein, retinol, folic acid, vitamin B12) and feeding (consumption of α -tocopherol adjusted for energy). All sets were adjusted according to the gender and age of the children.

By not presenting normal distribution the outcome variable "serum α -tocopherol" was transformed into logarithm. The evaluation of the relation

between the independent variables and the outcome was sent by linear regression adjusted for age and gender of the children, the variables with $p < 0,20$. Thus, they were tested in a multiple model from the most distal set to the more proximal, held in the following models variables with p values $< 0,10$ in the Wald test. Variables that showed $p \geq 0,10$ were tested individually to verify if their presence in the model would have interference by more than 10% in the beta coefficient. It was considered a factor associated with serum concentration of α -tocopherol log the variables of the final model that presented significance level $< 5\%$.

To conclude, the matrix project passed the Research Ethics Committee of the Public Health School of São Paulo University nº 2291/13 protocol and registered at the Ethics Committee of Federal University of Goiás, protocol nº 065/12. Data collection was preceded by the approval of the Municipal Health Secretariat of Goiânia, Goiás.

RESULTS

The survey comprised a sample of 228 children, 115 boys (50,4%), with an average age of 13 months-old. The per capita income had an average of 300 *reais*, as for 83,8% of families did not receive the Child Care Benefit. The average mothers' age was 27 years-old, 78,9% of mothers lived with a partner, and the average studied counted 11 years. Households of 78,9% had proper treatment of drinking water. The average birth weight was $3,24 \pm 0,48$ kg and the average birth length 50 cm. The HAZ had a mean score of 0,91, 68,9% of children were normal weight according to BMI/A, and 53,9% of children were breastfed during the study period. The serum concentration of α -tocopherol had a median of 3.6 $\mu\text{mol/L}$, the mean hemoglobin at $12,5 \pm 0,94$ g/dL and retinol median was 1,3 $\mu\text{mol/L}$ (Table 1).

Data on the daily food intake of the children studied is shown in Table 2. 79,9% of the sample consumed two salty meals, 53,1% drank milk once to 3 times, 55,3% consumed 1 to 3 fruits, 48,0% did not consume vegetables, and 76,6% did not have soup, and 40,6% ate meat twice times. The only variable that showed a statistically significant difference between the groups of children

with and without VED was meat consumption frequency. Children who ate meat twice a day tended to lower occurrence of VED (77,5%) compared to those who did not consume meat or did it only once a day (86,9%) ($p = 0,018$). The occurrence of VED in the sample was 82,0%.

In addition, linear regression analysis of each independent variable on the log of serum concentration of α -tocopherol, adjusted for gender and age of the children, the variables with $p < 0,20$ were per capita income, receiving Child Care benefit, mothers' age and maternal education level, treated water for drinking, PCR, retinol, folic acid, and consumption of α -tocopherol adjusted by energy (Table 3).

Maternal education levels and retinol have shown a positive association with the log of serum α -tocopherol. Noticeably for each full years of maternal education and each retinol unity lead to an increase of 0,168 $\mu\text{mol/L}$ and 0,890 $\mu\text{mol/L}$ at log serum α -tocopherol, respectively, while each family that received Child Care Benefit had decreased to 0,145 $\mu\text{mol/L}$ at log serum α -tocopherol. Amongst the variables that interfere with the concentration of α -tocopherol, retinol ($\beta = 0,339$) showed the highest outcome effect.

DISCUSSION AND CONCLUSION

In the present study maternal education level and retinol was positively associated with the concentration of serum α -tocopherol, and negative association with receiving Child Care benefit. In determining the occurrence of VED in this population, it was also observed the cut point $<11.6 \mu\text{mol/L}$ frequency found was 82%.

While determining the occurrence of DVE in this population, noticeably the results found covered most part of the target population, which can be seen in a research carried out in the United States with 39 children aged 1 to 12, found a prevalence of VED 36% of the sample [32]; likewise in Belgium, in a study that evaluated 332 children aged 0 to 4 years the prevalence of VED found was 3,6% [33]. In Brazil, though, a study that evaluated 702 preschoolers and schoolchildren from 4 to 10 years, found VED with frequency of 8,8% [34]. Whilst evaluating VED in all research centers, the percentage found was 61,5%

[18], which shows that this deficiency had high incidence in children users of the Unified Health System (UHS) in other regions of the country. There were no other national studies evaluating VED in children under two years of age.

Hence, the high VED values observed in this study were not expected. The high occurrence of VED in this population may partly be explained by the low consumption of dietary sources of this vitamin. It was detected that the median α -tocopherol consumption of children with VED was 4,3 mg, which is below the intakes for this age group (5 - 6 mg/day) [6].

Such profile can be noted in a survey in Singapore with 277 children under 16 years old, within which 45 children from 1 to 3 years of age had 100% of inadequate intake of vitamin E [35]. These data are worrying due to poor nutrition in dietary sources of vitamin E that cause a decrease in antioxidant defense and enhance the risk of developing diseases such as cardiovascular disease [36].

In order to support this hypothesis, food consumption data of these children showed that most of them do not consume any kind of vegetable in daily basis, while the consumption of milk and flour is high in this population. The vegetables group concentrates much of the dark green vegetables, considered good sources of vitamin E. The findings reproduce a reality already found in other studies, such as those carried out with 4322 Brazilian children 6-59 months of age, and 45% of central-western children did not consume leafy greens [37].

As for the consumption of vegetable oil according to the range recommended by the Dietary Guidelines for Children Two Years Minor (one portion - 4 g/day) [30], its intake is considered adequate intake for children in the age group studied.

Nevertheless, since the majority of the population uses soybean oil in their food preparations, and that has the lowest α -tocopherol content compared to other types of oil, greater amounts intakes would be necessary to achieve vitamin recommendation confronting the healthy eating recommendations for this age group. Thus, it is important to increase incentives in nutrition education to parents and guardians so that vitamin E food sources are inserted in the feeding of these children since the beginning of complementary feeding.

The variable meat consumption presented a statistically significant difference compared to their percentage among the groups according to the concentration of α -tocopherol. This result does not provide information to explain the high incidence of VED, because meat was not a good source of vitamin E.

On the subject of the factors associated with the nutritional status of vitamin E, this study found that maternal education level and serum retinol concentration were positively associated with the concentration of serum α -tocopherol, and a negative association regarding Child Care Benefit. This association with the Child Care Benefit should be interpreted with much caution, since the receiving period has not been investigated; therefore it limits the investigation of the results observed. It is more suitable to interpret this result as an income proxy since this program performs direct transfer of income to families living in poverty and extreme poverty.

Accordingly families that receive Child Care benefit have a higher risk of food insecurity and social vulnerability, consequently unfavorable financial conditions for the acquisition of healthy foods [38], among them, food source of vitamin E. This income duality and healthy eating is described in several studies that claim that low family income makes it difficult to purchase and access to better nutritional quality, and leads to higher rates of deficiency diseases, mainly related to micronutrients [39].

Maternal level of education had a positive association with serum concentration of α -tocopherol, however has not been investigated similar association in other specific studies for vitamin E. It is proven that the higher maternal education level has a direct influence on better employment opportunities and wages, providing the family with a more favorable purchasing power [39], better sanitation and regular access to health [40].

Education also affects the maternal reproductive behavior related to low fertility, reproduction in low-risk ages, and longer birth intervals [41]. Maternal level of education can also influence the changes in women's individual behavior which allow them to be better educated and independent, to have greater discretion over financial resources [42]. Therefore, investment in maternal education level, ensures effectively preventing nutritional deficiencies such as VED.

The serum concentration of retinol was also positively related to the concentration of α -tocopherol. Such an association is justified because vitamins A and E are fat-soluble, involved in several important biological processes, such as immunity, protection against tissue damage, reproduction, growth and development [43, 44], and very important in the initial life phase, as used in the prevention and treatment of diseases such as cardiovascular and cancer [45, 46].

Within the context of prevention, it is important to expand the VED responsibility for all spheres of government, through increased investment in free and quality education, giving parents greater access to healthy food on information for children, as well as improve the family income.

In conclusion, the α -tocopherol serum concentration was positively associated with maternal education level and serum retinol and can directly influence the occurrence of VED in this population. The results will encourage further studies on the subject, as they are essential to evaluate the nutritional status of vitamin E of infants, not excluding the determinant factors of its occurrence.

Lastly, it must be emphasized the need to implement policies to prevent and treat VED in children under two years of age. As recommended in the Brazilian National Food and Nutrition Policy it is necessary to encourage healthy eating practices within BHU through training its professionals, in order to know about food and the feeding process contributions to the prevention of nutritional disorder such as VED.

REFERENCES

1. Traber MG, Sies H. Vitamin E I in humans: Demand and Delivery. *Annu Ver Nutr.* 1996; 16: 317-21.
2. Bramley PM, Elmadfa, I, Kafatos A, Kelly FJ, Manios Y, Roxborough HE, et al. Vitamin E. *J Sci Food Agric.* 2000; 80(7): 913-38.
3. Kolb E, Seehawer J. The development of the immune system and vitamin levels in the bovine fetus and neonate: a review including the effect of vitamins on the immune system. *Tierarztl Umsch.* 1998; 53(12): 723–30.
4. Meydani SN, Barklund M P, Liu S, Meydani, M, Miller RA, Cannon JG, Morrow FD, et al. Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52(3): 557-63.

5. United States Department Of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference Release, Nutrients: Vitamin E (alpha-tocopherol) (mg), Measured by: 100 g. (accessed in June/2015).
6. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Vitamin E. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. 2000: 529p.
7. Spannaus-Martin DJ, Cook LR, Tanumihardjo AS, Duitsman PK, Olson JA. Vitamin A and vitamin E statuses of preschool children of socioeconomically disadvantaged families living in the midwestern United States. *Eur J Clin Nutr.* 1997; 51(12): 864 -9.
8. Strauss RS. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and β -carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *J Pediatr.* 1999; 134 (2): 160-5.
9. Aeberli I, Molinari L, Spinass G, Lehmann R, L'allemand D, Zimmermann MB. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84 (4): 748–55.
10. Gondim SSR, Diniz AS, Souto RA, Bezerra RGS, Albuquerque EC, Paiva AA. Magnitude, tendência temporal e fatores associados à anemia em crianças do Estado da Paraíba. *Rev Saúde Pública.* 2012; 46 (4): 649-56.
11. Miglioli TC, Fonseca VM, Gomes Junior SC, Lira PIC, Batista-Filho M. Deficiência de Vitamina A em mães e filhos no Estado de Pernambuco. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2013; 18 (5): 1427-40.
12. Traber MG, Kamal-Eldin A. Oxidative stress and vitamin E in anemia. In: Kraemer K, Zimmermann MB. *Nutritional Anemia* Basel: Sight and Life Press. 2007. p. 155–88.
13. Sokol RJ, Reardon MC, Accurso FJ, Stall C, Narkewicz M, Abman S, et al. Fat-soluble-vitamin status during the first year of life in infants with cystic fibrosis identified by screening of newborns. *Am J Clin Nutr.* 1989; 50(5): 1064-71.
14. Aparicio JM, Belanger-Quintana A, Suarez L, Mayo D, Benitez J, Diaz M, et al. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: case report and review of the literature. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001; 33(2): 206–10.
15. Clarke MW, Burnett J, Croft KD. Vitamin E in human health and disease. *Crit Rev Clin Labor Sci.* 2008; 45(5): 417–50.
16. Looker AC, Underwood BA, Wiley J, Fuiwood R, Sempos CT. Serum α -tocopherol levels of mexicanamericans, cubans, and puertoricans aged 4-74 y. *Am J Clin Nutr.* 1989; 50(3): 491-6.
17. Fares S, Chahed MK, Feki M, Beji C, Raissac P, Ati K, et al. Status of vitamins A and E in schoolchildren in the centre West of Tunisia: a population-based study. *Public Health Nutr.* 2010; 14(2): 255–60.
18. Cardoso MA, Augusto RA, Bortolini GA, Oliveira CSM, Tietzman DC, Sequeira LAS, et al. Effect of Providing Multiple Micronutrients in Powder through Primary Healthcare on Anemia in Young Brazilian Children: A Multicentre Pragmatic Controlled Trial. *Plos One.* 2016; 14:1-13.
19. Hulley SP, Cummings SR. *Designing Clinical Research an Epidemiologic Approach.* Baltimore: Williams & Wilkin. 1988.
20. Lohman TG, Roche AF, Martorel R. *Anthropometric standardization reference manual.* Illinois: Human Kinetics Books. 1988.

21. World Health Organization. WHO Anthro [version 3.2.2, January 2011] and macros. <http://www.who.int/childgrowth/software/es/index.html> (accessed in July/2014).
22. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention, and Control. A guide for programme managers. Geneva: World Health Organization; 2001.
23. Moshfegh AJ, Borrud L, Perloff B, LaComb R. Improved method for the 24-hour dietary recall for use in national surveys. *FASEBJ*. 1999; 13: 603.
24. Moshfegh AJ, Raper N, Ingwersen L, et al. An improved approach to 24-hour dietary recall methodology. *Ann NutrMetab*. 2001;45(156).
25. Núcleo de Estudos em Pesquisa e Alimentação. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Campinas: Unicamp, 1996.
26. Reis MS, Naves MMV. Medidas caseiras. In: _____. Manual de Nutrição e Dietética. Goiânia: Cegraf; 1998, 172p.
27. Drewett RF, Woolridge MW, Jackson DA, Imong SM, Mangklabruks A, Wongsawasdi L, et al. Relationships between nursing patterns, supplementary food intake and breast-milk intake in a rural Thai population. *Early Hum Dev* 2011; 20(1): 13-23.
28. Núcleo de Estudos em Pesquisa e Alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos. Campinas: Unicamp, 2011.
29. Willett W, Stampfer M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: Willett W. *Nutritional epidemiology*. New York: Oxford University Press; 1998. 514p.
30. Ministério da Saúde. Guia Alimentar para Crianças menores de 2 anos. Brasília, DF: MS, 2005: 152.
31. Victora CG, Huttly SR, Fuchs SC, Olinto MTA. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. *Int J Epidemiol* 1997; 26(1): 224–7.
32. Farrell PM, Levine SL, Murphy MD, Adams AJ. Plasma tocopherol levels and tocopherol-lipid relationships in a normal population of children compared to healthy adults. *Am J ClinNutr*. 1978; 31: 1720-6.
33. Biervliet SV, Biervliet JPV, Bernard D, Matthys M, Vercaemst R, Bleton V. Serum α -Tocopherol and Selenium in Belgian Infants and Children. *Biol Trace Elem Res*. 2001; 79(2): 115-20.
34. Augusto RA, Kobayashi F, Cardoso MA. Associations between low consumption of fruits and vegetables and nutritional deficiencies in Brazilian schoolchildren. *Public Health Nutr*. 2014; 18(5): 927-35.
35. Silva JVL, Timóteo AKCD, Santos CD, Fontes G, Rocha EMM. Consumo alimentar de crianças e adolescentes residentes em uma área de invasão em Maceió, Alagoas, Brasil. *Rev Bras Epidemiol*. 2010; 13(1): 83-93.
36. Caetano MC, Ortiz TTO, Silva SGL, Souza FIS, Sarni ROS. Complementary feeding: inappropriate practices in infants. *J Pediatr*. 2010; 86 (3): 196-201.
37. Bortolini GA, Gubert MB, Santos LMP. Consumo alimentar entre crianças brasileiras com idade de 6 a 59 meses. *Cad Saúde Pública*. 2012; 28(9):1759-71.
38. Blakely T, Hales S, Kieft C, Wilson N, Woodward A. The global distribution of risk factors by poverty level. *Bull World Health Organ*. 2005; 83:118-26.
39. Assis AMO, Barreto M, Santos NS, Oliveira LPM, Santos SMC, Pinheiro SMC. Desigualdade, pobreza e condições de saúde e nutrição na infância no Nordeste brasileiro. *Cad Saúde Pública*. 2007; 23(10):2337-50.

40. Cleland JG, Van Ginneken JK. Maternal education and child survival in developing countries: The search for pathways of influence. *Soc Sci Med.* 1988; 27: 1357–68.
41. Barrett H, Brown A. Health, hygiene, and maternal education: Evidence from Gambia. *Soc Sci Med.* 1996; 43:1579–90.
42. Desai S, Alva S. Maternal education and child health: Is there a strong causal relationship? *Demography.* 1998; 35:71–81.
43. Rodriguez-Amaya D.B. Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin a carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Arlington: John Snow, 1997.
44. Sapin, V, Alexandre MC, Chaïb S, Bournazeau JA, Sauvant P, Borel P, et al. Effect of vitamin A status at the end of term pregnancy on the saturation of retinol binding protein with retinol. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(2):537–43.
45. Van Vliet T. Absorption of β -carotene and other carotenoids in humans and animal models. *Eur J Clin Nutr.* 1996; 50(3):32S-37S.
46. Debier C, Larondelle Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br J Nutr.* 2005; 93(2):153–74.

Acknowledgments: The authors thank all children, parents and caregivers who contributed to this research, also all ENFAC team that made possible the planning and execution of the research, as well as the preparation of this article.

* Members of the Estudo Nacional da Fortificação caseira da Alimentação Complementar (ENFAC) *Working Group*: Marly Augusto Cardoso, Rosângela Aparecida Augusto, Fernanda Cobayashi (Department of Nutrition, Sao Paulo University); Maria Claret C. M. Hadler, Maria do Rosário G. Peixoto (Nutrition College, Goias Federal University), Pedro Israel C. Lira, Leopoldina Augusta S. Sequeira (Nutrition Department, Pernambuco Federal University), Pascoal Torres Muniz, Cristiéli Sérgio de Menezes Oliveira (Health Sciences Center, Acre Federal University), Márcia Regina Vitolo, Daniela Cardoso Tietzmann (Health Sciences of Porto Alegre Federal University), Márcia Maria Tavares Machado (Preventive Medicine Department, Ceara Federal University), Patrícia Constante Jaime, Eduardo Augusto Fernandes Nilson, Gisele Ane Bortolini, Sara Araújo da Silva (General Coordination and Nutrition Power, Health Ministry of Brazil).

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the factors associated with the nutritional status of vitamin E in infants users of Public Health Center in Goiania, State of Goiás, Brazil. A Cross-sectional study with a sample of 228 children aged 11 to 15 months-old. Children with serum α -tocopherol concentration below 11.6 $\mu\text{mol/L}$ were classified as deficient in vitamin E. The association of independent variables on the log of the serum concentration of α -tocopherol was evaluated by multiple linear regressions. The occurrence of vitamin E deficiency in the population studied was 82.0%. The variables that were associated to the log serum α -tocopherol were receiving Child Benefit [$\beta = -0.145$, $p = 0.001$], maternal educational level [$\beta = 0.168$, $p = 0.001$] and serum retinol concentration [$\beta = 0.890$, $p = 0.001$]. Procedures to prevent such deficiency should be incorporated in the Public Health Centers, as an encouragement to complementary feeding rich in micronutrient, food fortification and nutrition education with innovative methodologies that lead parents or even guardians to provide food source of vitamin E for children besides government investment in parent education.

Keywords: vitamin E, infants, alpha-tocopherol, nutritional deficiencies.

Table 1.Characterization of infants users of Public Health Center in Goiania, Goias, Brazil, 2013 [n = 228].

Variables	N	
Sex		
Male	115	50,4%
Female	113	49,6%
Child age (moths)	228	13,0 (12,4 - 13,8)
Income (per capita)	228	300 (200 – 462,5)
Receive Child Care Benefit		
No	191	83,8%
Yes	37	16,2%
Maternal age (years)	228	27 (23 – 32)
Marital status		
With life partner	180	78,9%
Without life partner	48	21,1%
Maternal education level (schooling years)	227	11 (8 – 11)
Treated drinking water		
Appropriate	180	78,9%
Inappropriate	48	21,1%
Number of prenatal visits	228	8 (6 – 10)
Birth weight (kg)	227	3,2 ± 0,48
Birth length (cm)	223	50 (48 – 51)
HAZ (Z- score)	225	0,9 ± 1,18
BMI/A		
Thinness	5	2,3%
Eutrophic	153	68,9 %
Overweight risk	48	21,6%
Overweight and Obesity	16	7,2%
Breast feeding		
No	105	46,1%
Yes	123	53,9%
Hemoglobin (g/dL)	227	12,5 ± 0,94
α-tocopherol (μmol/L)	228	3,6 (0,1 – 9,51)
C-Reactive Protein (mg/L)	223	0,5 (0,2 – 1,7)
Retinol (μmol/L)	228	1,3 (0,9 – 1,8)
Folic Acid (nmol/L)	223	19,3 (14,1 – 24,4)
Vitamin B12 (pmol/L)	223	245,7 (171,9 – 352,0)

Data expressed in absolute and relative frequency, mean ± standard deviation or median and interquartile range

Table 2. Food consumption as cutoff point for concentration of α -tocopherol infants users of Public Health Center in Goiania, Goias, Brazil, 2013 (n = 219).

Consumption categories	α -tocopherol concentration			p
	Total	$\geq 11,6 \mu\text{mol/L}$ (18,0%)	$< 11,6 \mu\text{mol/L}$ (82,0%)	
N* salty foods				0,198 ¹
Not consume	4 (1,8%)	2 (5,4%)	2 (1,1%)	
Once/day	40 (18,3%)	6 (16,2%)	34 (18,7%)	
Twice/day	175 (79,9%)	29 (78,4%)	146 (80,2%)	
N meals with milk				0,503 ¹
Not consume	56 (24,5%)	9 (21,9%)	47 (25,1%)	
1 – 3 times/day	121 (53,1%)	20 (48,8%)	101 (54,0%)	
4 or more times/day	51 (22,4%)	12 (29,3%)	39 (20,9%)	
Frequency consumption of fruits				0,193 ¹
Not consume	89 (39,9%)	19 (46,3%)	70 (33,7%)	
1 – 3 times/day	126 (55,3%)	18 (43,9%)	108 (57,7%)	
4 or more times/day	13 (5,7%)	4 (9,8%)	9 (4,8%)	
Frequency vegetable consumption				0,119 ¹
Not consume	105 (48,0%)	15 (40,5%)	90 (49,4%)	
Once/day	57 (26,0%)	8 (21,6%)	49 (26,9%)	
Twice/day	57 (26,0%)	14 (37,8%)	43 (23,6%)	
Frequency meat consumption				0,018 ¹
Not consume	64 (29,2%)	13 (35,1%)	51 (28,0%)	
Once/day	66 (30,1%)	4 (10,8%)	62 (34,1%)	
Twice/day	89 (40,6%)	20 (54,1%)	69 (37,9%)	
Frequency consumption flour				0,263 ¹
Not consume	97 (42,6%)	17 (41,5%)	80 (42,8%)	
1 – 3 times/day	94 (41,2%)	14 (34,1%)	80 (42,8%)	
4 or more times/day	37 (16,2%)	10 (24,4%)	27 (14,4%)	
N meals with soup				0,523 ¹
Not consume	168 (76,6%)	31 (83,8%)	137 (75,3%)	
Once/day	28 (12,8%)	3 (8,1%)	25 (13,7%)	
Twice/day	23 (10,6%)	3 (8,1%)	20 (11,0%)	
Energy (kcal)	1188 (965,3 – 1442,88)	1119,1 (938,0 – 1451,0)	1212,5 (961,4 – 1445,3)	0,748 ²
CHO** adjusted by energy (g)	168,2 $\pm$ 26,4	175,1 $\pm$ 25,6	166,8 $\pm$ 26,4	0,080 ³
PTN** adjusted by energy (g)	40,8 (33,5 – 48,1)	38,5 (30,5 – 47,1)	41,4 (33,6 – 48,7)	0,395 ²
LIP** adjusted by energy (g)	43,3 (33,7 – 51,1)	41,2 (30,8 – 50,2)	45,2 (34,2 – 51,6)	0,274 ²
α -te consumption ** adjusted for energy (mg)	4,3 (2,3 – 8,4)	4,3 (2,8 – 8,3)	4,3 (2,2 – 8,4)	0,415 ²
Oil consumption (g)	4,6 (2,5 – 7,1]	4,5 (2,1 – 6,4)	4,7 (2,6 – 7,2)	0,218 ²

*N: number

** CHO: Carbohydrates; PTN: Proteins; LIP: Lipids; α -te: α -tocopherol

¹ X² Pearson's Test to categorical variables

² Mann Whitney's Test to variables with non-normal distribution

³ Student's t test for normally distributed variables

Table 3. Simple linear regression analysis of independent variables on the serum log outcome α -tocopherol in infants users of Public Health Center in Goiania, Goias, Brazil, 2013 (n = 228).

Variables	β^*	CI 95%**	p
Per capita income	0,001	-0,001 – 0,000	0,186
Receive Child Care Benefit	-1,445	- 2,185 – - 0,707	0,000
Maternal age	0,037	-0,001 – 0,074	0,058
Mother with lifepartner	0,144	- 0,546 – 0,834	0,681
Maternal education level	0,209	0,114 – 0,304	0,000
Treated drinking water	0,608	- 0,075 – 1,291	0,081
Number of prenatal visits	- 0,005	-0,111 – 0,101	0,928
Birth weight	-0,000	-0,001 – 0,000	0,795
Birth length	-0,015	-0,117 – 0,089	0,784
HAZ	-0,118	-0,357 – 0,120	0,330
BMI/A	0,052	-0,185 – 0,289	0,668
Breast feeding	-0,032	-0,595 – 0,531	0,911
Hemoglobin	0,148	-0,157 – 0,452	0,341
C-reactive protein	-0,075	-0, 127 - -0,023	0,005
Retinol	1,033	0,706 – 1,359	0,000
Folic Acid	0,016	- 0,006 – 0,038	0,146
Vitamin B12	0,000	- 0,002 – 0,002	0,858
α -tocopherol consumption adjusted for energy	0,064	- 0,001 – 0,129	0,054

* Regression coefficient adjusted for sex and age of the children

** CI 95%= confidence interval 95%

Table 4. Analysis of multiple linear regression of factors related to serum concentration of α -tocopherol in infants users of Public Health Center in Goiania, Goias, Brazil, 2013 (n = 228).

Variables	β^*	CI 95%**	p	R ²	β standard
BLOCK I				0,064	
Per capita income	- 0,000	- 0,001 – 0,001	0,669		
Receive Bolsa Família	-1,405	- 2,169 - -0,641	0,000		- 0,194
BLOCK II				0,127	
Maternal age	0,023	- 0,014 – 0,060	0,219		
Maternal education level	0,168	0,070 – 0,266	0,001		0,176
Treated drinking water	0,176	- 0,507 – 0,860	0,612		
BLOCK III				0,243	
C-reactive protein	- 0,031	- 0,080 – 0,018	0,216		
Retinol	0,890	0,531 – 1,248	0,000		0,339
Folic Acid	0,002	- 0,020 – 0,023	0,869		
α -tocopherol consumption adjusted for energy	0,010	- 0,054 – 0,075	0,752		

* Regression coefficient adjusted for sex and age of the children

** CI 95%= confidence interval 95%

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante de todo o exposto e dos resultados encontrados, o presente estudo identificou o percentual de ocorrência de DVE nos lactentes usuários do SUS da cidade de Goiânia, assim como permitiu avaliar quais os fatores associados a seu aparecimento. Os achados demonstram um novo panorama quanto as carências nutricionais de crianças goianas, e enfatizam a necessidade de um olhar mais aprofundado para essa população, a fim de que se conheça melhor seu perfil socioeconômico, demográfico, antropométrico e alimentar.

Programas de combate a carências nutricionais e incentivo a alimentação saudável na infância já estão em vigor no Brasil, como o NutriSUS e Estratégia Amamenta e Alimenta Brasil, mas ainda não se tem comprovação do seu impacto na prevenção e combate a DVE.

É importante que o estímulo a práticas de alimentação saudável seja feito ainda nos primeiros meses de vida da criança, com inserção de alimentos fonte de vitamina E desde o início da alimentação complementar. Ressalta-se também a necessidade de maior investimento governamental em educação de pais e responsáveis, o que pode proporcionar maior acesso a alimentos de qualidade e melhora da renda familiar

Com a DVE em crianças menores de dois anos ainda não havia sido estudada no Brasil, salienta-se a necessidade de realização de mais estudos no território nacional, a fim de se conhecer o panorama brasileiro quanto ao estado nutricional de vitamina E em lactentes, assim como conhecer todos os fatores que estejam associadas ao aparecimento de sua deficiência.

APÊNDICES

APÊNDICE A – CÁLCULO DE CARDÁPIOS RECOMENDADOS PELO GUIA ALIMENTAR PARA CRIANÇAS MENORES DE DOIS ANOS

Consulta: 20/01/2016

Paciente: CARDÁPIO 1

Idade: 11 meses

Sexo: Masculino

PLANO ALIMENTAR: DIETA 20/01

COMPONENTES BÁSICOS		MINERAIS	
CARBOIDRATOS, CHO	100,02g	BORO, B	0,01mg
PROTEÍNAS, PTN	21,83g	CÁLCIO, Ca	198,26mg
GORDURAS TOTAIS, GORD	33,54g	CLORO, Cl	479,55mg
COLESTEROL	28,66mg	COBRE, Cu	0,37mg
FIBRA ALIMENTAR TOTAL	8,02g	CROMO, Cr	11,40mcg
ÁGUA	332,50ml	ENXOFRE, S	107,84mg
VITAMINAS		FERRO, Fe	2,26mg
		FLÚOR, F	< 0,01mg
		FÓSFORO, P	202,20mg
		IODO, I	130,33mcg
		MAGNÉSIO, Mg	72,33mg
		MANGANÊS, Mn	0,70mg
		POTÁSSIO, K	828,60mg
		SELÊNIO, Se	7,68mcg
		SÓDIO, Na	577,75mg
		ZINCO, Zn	2,59mg
		OUTROS COMPONENTES	
		ÁCIDO OXÁLICO	0,20mg
		ÁCIDO ÚRICO	26,00mg
		FITATO	524,71mg
		INOSITOL	78,00mg
		LICOPENO	0,54mg
		PURINAS	30,04mg
		TIRAMINA, Tir	3,01mcg
		CARBOIDRATOS ESPECIAIS	
		FIBRA INSOLÚVEL	1,00g
		FIBRA SOLÚVEL	0,53g

Consulta: 20/01/2016

Paciente: CARDÁPIO 2

Idade: 11 meses

Sexo: Masculino

PLANO ALIMENTAR: DIETA 20/01

COMPONENTES BÁSICOS		MINERAIS	
CARBOIDRATOS, CHO	98,00g	BORO, B	0,01mg
PROTEÍNAS, PTN	34,42g	CÁLCIO, Ca	640,43mg
GORDURAS TOTAIS, GORD	30,55g	CLORO, Cl	1.029,30mg
COLESTEROL	82,16mg	COBRE, Cu	0,34mg
FIBRA ALIMENTAR TOTAL	7,18g	CROMO, Cr	15,15mcg
ÁGUA	792,16ml	ENXOFRE, S	277,84mg
VITAMINAS		FERRO, Fe	2,47mg
		FLÚOR, F	0,10mg
		FÓSFORO, P	674,78mg
		ÍODO, I	109,37mcg
		MAGNÉSIO, Mg	112,00mg
		MANGANÊS, Mn	0,70mg
		MOLIBDÊNIO, Mo	25,00mcg
		POTÁSSIO, K	1.396,39mg
		SÓDIO, Na	657,45mg
		ZINCO, Zn	4,18mg
		OUTROS COMPONENTES	
		ÁCIDO OXÁLICO	3,70mg
		ÁCIDO ÚRICO	66,26mg
		FITATO	524,71mg
		INOSITOL	90,50mg
		LICOPENO	0,54mg
		PURINAS	39,89mg
		TIRAMINA, TIR	3,01mcg
		CARBOIDRATOS ESPECIAIS	
		FIBRA INSOLÚVEL	1,00g
		FIBRA SOLÚVEL	0,53g
		LACTOSE	24,50g

Consulta: 20/01/2016

Paciente: CARDÁRIO 3

Idade: 1 ano, 11 meses

Sexo: Masculino

PLANO ALIMENTAR: DIETA 20/01

COMPONENTES BÁSICOS		MINERAIS	
CARBOIDRATOS, CHO	146,64g	BORO, B	0,11mg
PROTEÍNAS, PTN	51,16g	CÁLCIO, Ca	714,46mg
GORDURAS TOTAIS, GORD	32,78g	CLORO, Cl	1.154,67mg
COLESTEROL	295,52mg	COBRE, Cu	4,82mg
FIBRA ALIMENTAR TOTAL	10,29g	CRÔMO, Cr	27,43mcg
ÁGUA	1.026,15ml	ENXOFRE, S	354,63mg
VITAMINAS		FERRO, Fe	5,69mg
TIAMINA, B1	0,70mg	FLÚOR, F	0,09mg
RIBOFLAVINA, B2	2,42mg	FÓSFORO, P	927,22mg
NIACINA, B3	14,60mg	ÍODO, I	134,78mcg
ÁCIDO PANTOTÊNICO, B5	2,95mg	MAGNÉSIO, Mg	139,75mg
PIRIDOXINA, B6	0,66mg	MANGANÊS, Mn	1,21mg
BIOTINA, B8	30,47mcg	MOLIBDÊNIO, Mo	12,00mcg
FOLATO, B9	53,85mcg	POTÁSSIO, K	1.853,10mg
CIANOCOBALAMINA, B12	3,06mcg	SÓDIO, Na	1.000,35mg
BETA-CAROTENO	181,15mcg	ZINCO, Zn	7,12mg
RETINOL, VIT. A	5.174,18mcg	OUTROS COMPONENTES	
ÁCIDO ASCÓRBICO, VIT. C	151,08mg	ÁCIDO OXÁLICO	4,39mg
CALCIFEROL, VIT. D	6,10mcg	ÁCIDO ÚRICO	52,00mg
TOCOFEROL, VIT. E	7,18mg	FITATO	545,37mg
MENADIONA, VIT. K	0,45mcg	INOSITOL	156,40mg
COLINA	418,36mg	LICOPENO	1,63mg
RAE	5.024,18mcg	PURINAS	60,11mg
RE	5.093,89mcg	TIRAMINA, TIR	3,01mcg
		CARBOIDRATOS ESPECIAIS	
		CELULOSE	0,22g
		FIBRA INSOLÚVEL	1,46g
		FIBRA SOLÚVEL	0,96g
		HEMICELULOSE	0,10g
		LACTOSE	19,60g
		LIGNINA	0,06g
		PECTINA	0,33g

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO DE TRIAGEM

BRASIL		FORTIFICAÇÃO CASEIRA COM VITAMINAS E MINERAIS		unicef		CNPq	
QUESTIONÁRIO DE TRIAGEM							
Identificação da criança:							
Data da entrevista							
1. Entrevistador							
2. Cidade: (1) Rio Branco (2) Goiânia (3) Olinda (4) Porto Alegre							
3. Nome da UBS:							
4. UBS Tipo: (1) Saúde da Família (2) Tradicional							
5. Nome da criança:							
6. Sexo: (0) Masculino (1) Feminino							
7. Data de nascimento da criança:							
8. Idade (meses):							
9. Quem irá responder o questionário: (1) mãe biológica (2) mãe adotiva (3) pai (4) avós (5) tia (6) cuidador/babá (7) outros							
10. Nome da mãe/responsável:							
11 e 12. Telefones Residenciais :				13 a 16. Celulares:			
Informações sobre o endereço							
17. CEP:				18 e 19. Tipo logradouro (Rua, Avenida, etc):			
20. Nome do logradouro:				21. Numero:		22. Compl.	
23. Bairro:				24. Cidade:		25. Estado :	
26. A criança fez o teste do pezinho? (0) Não (1) Sim (99) NS (se "não", pular p/ Q.29 e preencher Q.27 e Q.28 c/ 88)							
27. Se sim, deu alguma alteração? (0) Não (1) Sim (88) NA (99) NS (se "não", pular p/ Q.29 e preencher Q.28 c/ 88)							
28. Se, sim, qual alteração? (1) fenilcetonúria, (2) hipotireoidismo congênito, (3) anemia falciforme (4) fibrose cística (88) NA (99) NS							
29. A criança apresenta alguma doença (crônica ou congênita)? (0) Não (1) Sim (99) NS (se não, pular para Q.32 e preencher Q30 e Q31 com 88)							
30. Se sim, qual? (1) malária (2) portadora de HIV (3) tuberculose (4) anemia (5) outra (88) NA (99) NS (Se "outra" preencher Q31, se diferente de "outra" pular para Q32 e preencher Q31 com 88)							
31. Se, outra qual?							
32. Nasceu de parto gemelar, tem irmão gêmeo? (0) Não (1) Sim (99) NS							
33. Idade gestacional (semanas) da mãe quando a criança nasceu (consultar cartão)? (1) <37 semanas (premature) (2) >=37 semanas (99) NS							
34. A criança está fazendo algum tratamento? (0) Não (1) Sim (99) NS (Se "não", pular para Q36 e preencher Q35 com 88)							
35. Se sim, qual? _____ (88) NA (99) NS							
36. Elegível? (1) Sim, para controle (2) Sim, para intervenção (3) Não elegível							

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: Efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da deficiência de ferro e anemia em crianças menores de um ano: estudo multicêntrico em cidades brasileiras.

Pesquisador Responsável: Prof^a. Dra. Maria Claret Costa Monteiro Hadler, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás. Telefone (62) 3209-6270, ramal 213, email clarethadler@uol.com.br

Este projeto tem o objetivo de avaliar o efeito do uso de vitaminas e minerais em pó na alimentação infantil para prevenção de anemia e deficiência de ferro em crianças de 6 a 23 meses de idade.

A metodologia da pesquisa inclui entrevistas e grupo focal sobre história individual e familiar, hábitos e práticas alimentares, medidas de peso e altura de sua criança. Coleta de sangue da criança será realizada entre os 12 e 14 meses de idade para avaliação de presença de anemia, deficiência de ferro e/ou de vitaminas A, D, E, B12 e ácido fólico. Você deverá trazer sua criança pela manhã em jejum de pelo menos 3 horas, ou seja, antes de mamar ou comer ao acordar, na data a ser agendada conforme sua preferência.

As crianças que ingressarem na pesquisa com idade entre 6 e 8 meses receberão 60 pequenos envelopes (saches) com vitaminas e minerais, que deverá ser acrescentado na comida ou papinhas de frutas ou verduras após estar pronta e no momento de oferecer à criança. Deverá ser acrescentado apenas um sachê por dia durante dois a três meses.

Durante a execução do projeto o desconforto esperado refere-se à coleta de sangue que utilizará profissionais treinados e material descartável. Por isso, os riscos são mínimos e comparáveis a qualquer outra coleta de sangue em laboratórios de análises clínicas. A coleta de sangue será feita na unidade de saúde ou no laboratório, conforme sua preferência. Caso prefira ir ao laboratório, você receberá dois passes de ônibus após a coleta do sangue. Caso sua criança esteja doente ou com febre no dia do exame de sangue, será marcado um novo dia para coleta do sangue.

Custos: Todos os exames de sangue serão gratuitos, ou seja, você não terá nenhum gasto.

Benefícios: Os resultados serão enviados para seu domicílio ou entregues pela equipe de pesquisadores em parceria com agentes de saúde. Os casos de crianças anêmicas e/ou com deficiências de ferro ou vitaminas receberão tratamento completo conforme orientação médica da equipe de pesquisa em parceria com profissionais de saúde da Unidade Básica de Saúde. Ao receber os resultados dos exames você receberá orientações para prevenção da anemia e/ou deficiência de ferro e de vitaminas com a alimentação.

Voluntariedade na participação: A participação na pesquisa é livre e não envolve nenhum custo, podendo retirar o seu consentimento a qualquer momento sem nenhum prejuízo a você ou a sua criança. O presente estudo não fornecerá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela participação.

Todas as informações obtidas e os resultados das análises bioquímicas **serão mantidos em sigilo.**

Você poderá tirar todas as suas dúvidas sobre o estudo neste momento ou posteriormente com o entrevistador.

DECLARAÇÃO DO RESPONSÁVEL PELA CRIANÇA

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa e ter meus direitos de:

1. receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;
2. retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
3. não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.

4. procurar esclarecimentos com o **Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, no telefone 62 3521-1215 ou Prédio da Reitoria, piso 1, Campus Samambaia (Campus II), CEP: 74001-970, Goiânia – GO. Email: CEP.prppg.ufg@gmail.com, ceua.ufg@gmail.com**, em caso de dúvidas ou notificação de acontecimentos não previstos.

Declaro estar ciente do exposto e desejar que _____ participe da pesquisa.

Goiânia, ____ de ____ de ____ .

Nome _____ do _____ responsável _____ pela criança: _____

Assinatura: _____

Eu, _____, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto ao participante e/ou responsável.

_____ Data: ____/____/____.

Telefone:

APÊNDICE D - QUESTIONÁRIO ÚNICO GRUPO CONTROLE

BRASIL FORTIFICAÇÃO CASEIRA COM VITAMINAS E MINERAIS		unicef		CNPq	
QUESTIONÁRIO ÚNICO DO GRUPO CONTROLE (12 a 14 meses)					
Identificação da criança:					
Data da entrevista (dd/mm/aa):				/	/
Nome do Entrevistador:					
BLOCO 1- Dados do Centro de Pesquisa e Unidade de Saúde					
1. Cidade: (1) Rio Branco (2) Goiânia (3) Olinda (4) Porto Alegre					
2. Nome da UB 8:					
3. UB 8 Tipo: (1) Saúde da Família (2) Tradicional					
BLOCO 2- Identificação da criança (solicitar a certidão de nascimento)					
1. Nome da criança (sem abreviações):					
2. Sexo: (0) masculino (1) feminino					
3. Data de nascimento (conferir na certidão de nascimento ou cartão da criança):					/ /
4. Quem irá responder ao questionário? (1) mãe biológica (2) mãe adotiva (3) pai (4) avós (5) vizinha (6) cuidador(a) (7) outros					
5. Nome da mãe					
6. Nome do entrevistado (preencher caso não for a mãe):					
7. RG da mãe/entrev.: 8. UF: 9. CPF:					
10. A criança mora com a mãe biológica? (0) Não (1) Sim					
11 e 12. Tel. Residenciais:					13 e 14. Tel Celulares:
<i>Informações sobre o endereço</i>					
17. CEP: 18 e 19. Tipo logradouro (Rua, Avenida, etc):					
20. Nome do logradouro:			21. Número:	22. Compl.	
23. Bairro:			24. Cidade:	25. Estado:	
BLOCO 3- Dados Maternos					
1. Os dados a seguir se referem a: (1) mãe biológica (2) mãe adotiva (3) responsável					
2. Especificar nome do responsável legal (caso não seja a mãe ou o informante da Q5 Bloco2):					
3. Cidade de nascimento da mãe/resp. legal:					
4. Estado de nascimento da mãe/resp. legal:					
5. Quanto tempo a mãe/resp. mora no local (anos)? (anotar "0" se menos de 1 ano)					
6. Qual a idade da mãe/resp. (anos)? ____ ____ anos (99) NS					
7. Cor/raça da mãe (só para biológica): (1) branca (2) negra (3) parda (4) indígena (5) amarela (6) outra (99) NS					
8. Estado civil da mãe/resp? (1) Casada/mora junto (2) Viúva (3) Solteira (4) separada (99) NS					
9. Quantidade de filhos vivos da mãe biológica: ____ ____ (99) NS					
10 e 11. Até que série a mãe/resp. completou na escola: 10. ____ série 11. ____ grau (00) analfabeta (98) não frequentou escola, mas sabe ler e escrever (99) NS					

BLOCO 4- Dados Socioeconômicos				
1. Quantas pessoas moram na casa? ____	(99) NS			
2. Quantos são menores de 5 anos? ____	(99) NS (incluir a criança pesquisada)			
3 e 4. Até que série o pai completou na escola: 3. _____ série 4. _____ grau (00) analfabeto (99) não frequentou escola, mas sabe ler e escrever (99) NS				
5. Ocupação do pai. (1) remunerada formal (2) remunerada informal (3) Não trabalha/Desempregado (4) Aposentado (99) NS				
6. Cor/raça do pai biológico: (1) branca (2) negra (3) parda (4) indígena (5) amarela (6) outra (99) NS				
7. Quem é o chefe da família? (1) pai (2) mãe (3) avô (4) outro (se pai ou mãe pular para Q8)				
8 e 9. Até que série o chefe da família completou na escola? 8. _____ série 9. _____ grau (00) analfabeto (99) não frequentou escola, mas sabe ler e escrever (99) NS				
10. Ocupação do chefe de família. (1) remunerada formal (2) remunerada informal (3) Não trabalha/Desempregado (4) Aposentado (99) NS				
11. Qual a renda total da família no último mês (sem casa decimal)?				
12. Recebe Bolsa Família? (0) não (1) sim (99) NS				
13. Se sim, quanto (valor inteiro, não usar casa decimal)? R\$ _____				
14. Recebe outros benefícios financeiros? (0) Não (1) Sim (99) NS				
15. Se sim, quanto (valor inteiro, não usar casa decimal)? R\$ _____				
16. Na casa tem luz elétrica? (0) não (1) sim, (99) NS				
17. Possui TV? (0) não (1) sim, uma (2) sim, mais de uma (99) NS				
18. Possui aparelho de som/rádio? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
19. Possui banheiro com vaso sanitário? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
20. Possui carro próprio? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
21. Possui moto própria? (0) não (1) sim, uma (2) sim, mais de uma (99) NS				
22. Possui bicicleta? (0) não (1) sim, uma (2) sim, mais de uma (99) NS				
23. Possui celulares em uso? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
24. Possui Computador/Note funcionando? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
25. Possui máquina de lavar roupa? (0) não (1) sim, uma (2) sim, mais de uma (99) NS				
26. Possui geladeira? (0) não (1) sim, uma (2) sim, mais de uma (99) NS				
27. Possui freezer? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
28. Possui fogão? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
29. Possui microondas? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
30. Possui Video cassete/ DVD? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
31. Possui linha de telefone fixo? (0) não (1) sim, um (2) sim, mais de um (99) NS				
32. Possui TV a cabo? (0) não (1) sim (99) NS				
33. Tem acesso a internet banda larga? (0) não (1) sim (99) NS				
34. Qual o tipo de esgotamento sanitário? (1) Rede pública (2) Fossa rudimentar (3) Fossa séptica (4) Vale/Céu aberto (99) NS				
35. De onde vem a água que a família utiliza? (1) Rede pública (2) Sistema/água de chuva (3) Poço/Cacimba (4) Rio/garapé (5) Outro (99) NS				
36. Qual o tratamento da água de beber? (0) não tratada (1) filtrada (2) clorada (3) fervida (4) mineral (5) outro (99) NS				

BLOCO 5- Dados da Criança		
1. A mãe (biológica) realizou pré-natal?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
2. Quantas consultas pré-natal a mãe fez na gravidez desta criança? ____	(99) NS	
3. Peso ao nascer: ____ gramas	(9999) NS (Se não sabe preencher Q4 com 88)	
4. Peso ao nascer obtido de:	(1) Cartão da criança (2) referido pela mãe/resp (88) NA	
5. Comprimento ao nascer: ____ cm	(9999) NS (Se não sabe, preencher Q5 com 88)	
6. Comprimento ao nascer obtido de:	(1) Cartão da criança (2) referido pela mãe/resp (88) NA	
7. Idade gestacional: ____ semanas	(99) NS	
8. Tipo de parto:	(1) Cesárea (2) Normal (3) Normal com fórceps (99) NS	
9. A criança frequenta creche?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
10. Nome da creche:		
11. Se sim, qual turno?	(1) turno integral (2) meio turno (99) NS (88) NA	
12. Idade em que entrou na creche: ____ mês		
BLOCO 6- Condições de Saúde da Criança		
1. A criança foi internada alguma vez desde que nasceu?	(0) Não (1) Sim (99) NS (Se "não", preencher Q2 a Q6 com 88)	
Se sim, responder as questões abaixo		
2. Diarreia	(0) Não (1) Sim (88) Não foi internada (99) NS	
3. Pneumonia	(0) Não (1) Sim (88) Não foi internada (99) NS	
4. Bronquite	(0) Não (1) Sim (88) Não foi internada (99) NS	
5. Outro motivo?	(0) Não (1) Sim (88) Não foi internada (99) NS	
6. Se outro, qual?		
7. A criança teve episódios de diarreia nos últimos 15 dias?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
8. Se teve diarreia, qual a duração: ____ dias	(88) NA (99) NS	
9. A criança apresentou febre nos últimos 15 dias?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
10. A criança apresentou tosse nos últimos 15 dias?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
11. Teve chiado no peito ou dificuldade de respirar ou cansaço?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
12. Teve algum outro problema de saúde nos últimos 15 dias?	(0) Não (1) Sim (99) NS	
13. Se sim, qual?		
14. A criança já teve diagnóstico de anemia?	(0) Não (1) Sim (99) NS	

BLOCO 7. Uso de suplementos

Nome do suplemento:	Utiliza ou utilizou?	Dose:	Frequência:	Idade no início do uso:	Tempo de uso:
NFERRO	FERRO	DFERRO	FQFERRO	IDFERRO	TPFERRO
Ferro:	(0) nunca usou (1) sim, usou (2) sim, usa (99) NS	__ gotas (99) NS (88) NA	__ X/dia __ X/sem __ X/mês (99) NS (88) NA (calcular a freq. em mês para digitar)	__ meses (99) NS (88) NA	__ dias __ meses (99) NS (88) NA (calcular o tempo em dias para digitar)
NVITAD	VITAD	DVITAD	FQVITAD	IDVITAD	TPVITAD
VitA+D:	(0) nunca usou (1) sim, usou (2) sim, usa (99) NS	__ gotas (99) NS (88) NA	__ X/dia __ X/sem __ X/mês (99) NS (88) NA (calcular a freq. em mês para digitar)	__ meses (99) NS (88) NA	__ dias __ meses (99) NS (88) NA (calcular o tempo em dias para digitar)
NPVFER	PVFER	DPVFER	FQPVFER	IDPVFER	TPPVFER
Poliv. c/ ferro:	(0) nunca usou (1) sim, usou (2) sim, usa (99) NS	__ gotas (99) NS (88) NA	__ X/dia __ X/sem __ X/mês (99) NS (88) NA (calcular a freq. em mês para digitar)	__ meses (99) NS (88) NA	__ dias __ meses (99) NS (88) NA (calcular o tempo em dias para digitar)
NPVSEM	PVSEM	DPVSEM	FQPVSEM	IDPVSEM	TPPVSEM
Poliv. s/ ferro:	(0) nunca usou (1) sim, usou (2) sim, usa (99) NS	__ gotas (99) NS (88) NA	__ X/dia __ X/sem __ X/mês (99) NS (88) NA (calcular a freq. em mês para digitar)	__ meses (99) NS (88) NA	__ dias __ meses (99) NS (88) NA (calcular o tempo em dias para digitar)
NOUTRO	OUTR	DOUTR	FQOUTR	IDOUTR	TPOUTR
outro:	(0) nunca usou (1) sim, usou (2) sim, usa (99) NS	__ gotas (99) NS (88) NA	__ X/dia __ X/sem __ X/mês (99) NS (88) NA (calcular a freq. em mês para digitar)	__ meses (99) NS (88) NA	__ dias __ meses (99) NS (88) NA (calcular o tempo em dias para digitar)

BLOCO 6 - Alimentação da Criança									
1. A criança mamou no peito na primeira hora ao nascer?								(0) Não (1) Sim (99) NS	
2. A criança ainda MAMA no peito?								(0) Não (1) Sim (99) NS	
3. Se a criança mamou ou mama no peito, até que idade recebeu somente leite materno, sem outro alimento, nem água ou chás (preencher em dias)?									
_____ dia(s) _____ mês(es) (888) ainda recebe só LM (sem água nem chá) (999) NS									
4. Se a criança mamou no peito, mas não mama mais, até que idade MAMOU (preencher em dias)?									
_____ dia(s) _____ mês(es) (0) nunca mamou (888) ainda mama (999) NS									
Com que idade começou a receber: nas questões abaixo utilizar 888 para "não recebe" e 999 para "não sabe"									
5. Água (preencher a idade em dias no campo cinza)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
6. Chá (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
7. Fruta/suco de frutas (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
8. Formula Infantil (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
9. Leite de vaca ou de outro animal (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
10. Hortaliças (verduras, legumes) (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
11. Carnes (frango, carne ou peixe) (em dias)								_____ mês(es) _____ dia(s)	
12. Feijões (feijão, lentilha, ervilha) (em dias):								_____ mês(es) _____ dia(s)	
13. Cereais (farinhas, mingau, macarão, biscoitos) (em dias):								_____ mês(es) _____ dia(s)	
BLOCO 7- Antropometria									
1. Peso mãe-bebê1 (Kg):									
2. Peso mãe-bebê2 (Kg):									
3. Peso mãe1 (Kg):									
4. Peso mãe2 (Kg):									
5. Comprimento do bebê1 (cm):									
6. Comprimento do bebê2 (cm):									

AGRADECER A COLABORAÇÃO E SE DESPEDIR DA MÃE

ANEXOS

ANEXO A – CARDÁPIOS RECOMENDADOS PELO GUIA ALIMENTAR PARA CRIANÇAS MENORES DE DOIS ANOS

1 Dieta com leite materno para crianças de seis a onze meses (850 Kcal) com refeições, alimentos, pesos (gramas), medidas caseiras, porções e grupos de alimentos.

Alimentos / Refeições	Peso (g)	Medidas Caseiras	N.º de Porções / Grupo de Alimentos
Leite Materno = 452 ml / dia			
Livre Demanda			
Almoço			
Macarrão cozido	60	2 colheres de sopa	1 Cereais
Molho de tomate	20	1 colher de sopa	½ Verduras e legumes
Carne moída refogada	20	1 colher de sopa	1 Carnes
Cenoura e chuchu refogados:			
Cenoura	20	4 fatias	1 Verduras e legumes
Chuchu	35	1 ½ colher de sopa	½ Verduras e legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1 Óleos e gorduras
Laranja pêra	75	1 unidade	1 Frutas
Lanche da Tarde			
Banana nanica amassada	43	½ unidade	1 Frutas
Aveia em flocos	12	1 colher de sopa	1 Cereais
Jantar			
Arroz branco cozido	62	2 colheres de sopa	1 Cereais
Feijão cozido (50% grão / 50% caldo)	26	1 colher de sopa	1 Feijões
Frango desfiado	25	2 colheres de sopa	1 Carnes
Brócolis picado cozido	26	2 colheres de sopa	1 Verduras e legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1 Óleos e gorduras
Mamão formosa	80	½ fatia	1 Frutas

Calculado pelo *software* "Virtual Nutri" (Philippi et al., 1996).

- 2 Dieta com leite de vaca para crianças não amamentadas de seis a onze meses (850 Kcal) com refeições, alimentos, pesos (gramas), medidas caseiras, porções e grupos de alimentos.

Alimentos / Refeições	Peso (g)	Medidas Caseiras	N.º de Porções / Grupo de Alimentos
Café da Manhã			
Leite tipo "C"	200	1 xícara de chá	1 Leite
Amido de milho (maisena)	16	1 colher de sobremesa	1 Cereais
Almoço			
Macarrão cozido	60	2 colheres de sopa	1 Cereais
Molho de tomate	20	1 colher de sopa	½ Verduras e legumes
Carne moída refogada	20	1 colher de sopa	1 Carnes
Cenoura e chuchu refogados:			
Cenoura	20	4 fatias	1 Verduras e legumes
Chuchu	35	1 ½ colher de sopa	½ Verduras e legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1 Óleos e gorduras
Laranja pêra	75	1 unidade	1 Frutas
Lanche da Tarde			
Banana nanica amassada	43	½ unidade	1 Frutas
Leite tipo "C"	200	1 xícara de chá	1 Leite
Jantar			
Arroz branco cozido	62	2 colheres de sopa	1 Cereais
Feijão cozido (50% grão / 50% caldo)	26	1 colher de sopa	1 Feijões
Frango desfiado	25	2 colheres de sopa	1 Carnes
Brócolis picado cozido	26	2 colheres de sopa	1 Verduras e legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1 Óleos e gorduras
Mamão formosa	80	½ fatia	1 Frutas
Lanche da Noite			
Leite tipo "C"	100	½ xícara de chá	1 Leite

Calculado pelo software "Virtual Nutri" (Philippi et al., 1996).

3 Dieta para crianças de 12 a 23 meses (1300 Kcal) com refeições, alimentos, pesos (gramas), medidas caseiras, porções e grupos de alimentos.

Alimentos / Refeições	Peso (g)	Medidas Caseiras	N.º de Porções / Grupo de Alimentos	
Café Da Manhã				
Leite tipo “C”	200	1 xícara de chá	1	Leite
Pão francês	25	½ unidade	1	Cereais
Geléia	23	1 ½ colher de sobremesa	1	Açúcares
Almoço				
Macarrão cozido	70	1 escumadeira	1	Cereais
Molho de tomate	60	3 colheres de sopa	1	Verduras e Legumes
Carne moída refogada	40	2 colheres de sopa	1	Carnes
Brócolis picado cozido	26	2 colheres de sopa	1	Verduras e Legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1	Óleos e gorduras
Salada de frutas:			3	Frutas
Banana nanica	43	½ unidade		
Maçã	33	¼ unidade		
Laranja	69	½ unidade		
Mamão	50	1/3 fatia		
Lanche da Tarde				
Iogurte natural	120	1 pote	1	Leite
Jantar				
Arroz branco	62	2 colheres de sopa	1	Cereais
Feijão (50% grão / 50% caldo)	26	1 colher de sopa	1	Feijões
Espetinho de fígado com:	34	¼ unidade	1	Carnes
Batata cozida	90	¾ unidade	1	Cereais
Cenoura cozida	22	2 colheres de sopa	1	Verduras e Legumes
Óleo de soja	4	1 colher de sobremesa	1	Óleos e gorduras
Suco de laranja	85	½ copo	1	Frutas
Lanche da Noite				
Leite tipo “C”	200	1 xícara de chá	1	Leite
Aveia em flocos	18	1 ½ colher de sopa	1	Cereais

Calculado pelo *software* “Virtual Nutri” (Philippi et al., 1996).

ANEXO B - PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/053/13

24 de junho de 2013.

Prezada pesquisadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, em sua 4.ª/13 Sessão Ordinária, realizada em 21/06/2013, analisou de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º 2291, intitulado "EFETIVIDADE DA FORTIFICAÇÃO CASEIRA COM VITAMINAS E MINERAIS NA PREVENÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO E ANEMIA EM CRIANÇAS MENORES DE UM ANO: ESTUDO MULTICÊNTRICO EM CIDADES BRASILEIRAS", do grupo III, sob responsabilidade da pesquisadora Marly Augusto Cardoso, considerando-o APROVADO. Salienta-se, ainda, que a documentação, referente às manifestações da ANVISA, deverá ser apresentada ao COEP sempre que houver alguma nova comunicação oficial em relação ao projeto.

Cabe lembrar que, de acordo com a Res. CNS 196/96, são deveres do(a) pesquisador(a): 1) Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa; 2) Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo COEP, no caso eventual auditoria; 3) Comunicar formalmente a este Comitê por ocasião do encerramento da pesquisa; 4) Elaborar e apresentar relatórios parciais e final; 5) Justificar perante o COEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Prof. Tit. Claudio Leone

Decano do Comitê de Ética em Pesquisa - FSP/USP

Ilm.ª Sr.ª

Prof.ª Assoc. Marly Augusto Cardoso
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública da USP

ANEXO C - PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Goiânia, 19 /04 /12

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA, PROTOCOLADO NESTE COMITÊ SOB O N.: 065/12

I – Identificação

- Título do projeto: Efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da deficiência de ferro e anemia em crianças menores de um ano: estudo multicêntrico em cidades brasileiras
- Pesquisador Responsável: Maria Claret C. M. Hadler
- Pesquisadores Participantes: Maria do Rosário G. Peixoto, Lara Lúvia Santos da Silva, Wanessa Santana Braga
- Instituição onde será realizado o estudo: Faculdade de Nutrição
- Data de apresentação ao CEP/UFG: 29/03/12
- Área Temática: Grupo III

Comentários do relator frente à Resolução CNS 196/96 e complementares em particular sobre:

II – Estrutura do Protocolo

CD; Folha de rosto CEP-UFG; Folha de rosto da CONEP com assinatura do responsável pela pesquisa e do responsável pela instituição; Termo de compromisso; Projeto de Pesquisa; TCLE; Formulário de triagem; Formulário inicial; formulário de seguimento grupo intervenção; Formulário coleta de sangue; Ofício do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/067/12 da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; Declaração de anuência e termo de compromisso da diretora de atenção à saúde da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia; Norma operacional nº 01/2112; Termo de concessão e aceitação de apoio financeiro a projeto/CNPq.

III – Projeto de pesquisa

Objetivo: Avaliar a efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da anemia e deficiência de ferro em crianças menores de um ano em cidades brasileiras. Em Específico: 1)- Avaliar a efetividade da estratégia de fortificação caseira na redução da prevalência de anemia e deficiência de ferro em crianças menores de um ano. 2)- Avaliar a adesão, aceitabilidade e possíveis efeitos colaterais do uso do suplemento com vitaminas e minerais na alimentação complementar. 3)- Analisar a percepção (fatores limitantes e facilitadores) dos pais e/ou responsáveis pelas crianças sobre a estratégia de fortificação caseira com vitaminas e minerais. 4)- Avaliar a percepção (fatores limitantes e facilitadores) dos profissionais de saúde sobre a estratégia de fortificação caseira com vitaminas e minerais. 5)- Comparar a efetividade da estratégia de fortificação caseira na redução da prevalência de anemia e deficiência de ferro segundo o modelo da atenção básica.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Análise das questões éticas:

Trata-se de estudo multicêntrico a ser realizado em cidades brasileiras (Goiânia, Olinda, Rio Branco e Porto Alegre) selecionadas pelo Ministério da Saúde. O delineamento do estudo será do tipo ensaio de campo pragmático em conglomerados constituídos por Unidades Básicas de Saúde (UBS) da rede pública segundo modelo da atenção básica (Tradicional e Estratégia Saúde da Família) nos municípios selecionados. Para o centro colaborador de Goiânia, o estudo será desenvolvido em Unidades de Saúde Tradicionais e em área com Estratégia Saúde da Família para verificar a logística de implantação da estratégia de fortificação caseira nos dois modelos de atenção da rede básica de saúde. Nos demais centros colaboradores, serão utilizados o modelo Tradicional em Rio Branco e Porto Alegre e o modelo Estratégia Saúde da Família em Olinda.

- Critérios de Inclusão e exclusão: Serão elegíveis ao estudo crianças entre 6 e 8 meses idade (Grupo Intervenção) e entre 12 e 14 meses de idade (Grupo Controle) residentes no território das UBS selecionadas e que não estiverem fazendo uso de suplemento de ferro no momento do recrutamento. Serão excluídas do estudo crianças com malária, portadoras de HIV, tuberculose, hemoglobinopatias e as que estiverem em tratamento da anemia no momento inicial da pesquisa.

- Garantia da Privacidade e Confidencialidade estão contempladas no projeto de pesquisa.

- Cronograma: Adequado. Início coleta de dados maio de 2012.

- Orçamento - Projeto financiado pelo CNPq - Edital/chamada: Encomendas MS-2011.

- Avaliação de riscos e benefícios: Relatam risco mínimo associado à coleta de sangue com material descartável. Como benefício da pesquisa relatam avaliação nutricional individual e colaboração na definição de estratégias para prevenção de anemia e deficiência de ferro na infância.

- Análise da metodologia e sua adequação aos objetivos da pesquisa: A metodologia encontra-se adequada.

- Verificação das condições para realização da pesquisa. As condições são adequadas e os currículos dos pesquisadores são compatíveis com a pesquisa proposta.

IV - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

- O TCLE está adequado, apresentado linguagem clara e cumpre com o solicitado no protocolo. No TCLE está garantida a interrupção, podendo retirar o seu consentimento a qualquer momento sem nenhum prejuízo aos pais e a criança. Está garantido que todas as informações obtidas e os resultados das análises bioquímicas serão mantidos em sigilo, bem como não ser identificado e ser mantido de caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



VI – Parecer do CEP:

Após análise dos documentos, páginas -01-55, de acordo com a Resolução CNS 196/96, o parecer, SMJ deste comitê, é pela **APROVAÇÃO**. Solicitamos à pesquisadora responsável, assim que obtiver manifestação final da ANVISA enviar, também, ao CEP/UFG, para compor este protocolo.

De acordo com a Res. CNS 196/96, são deveres do(a) pesquisador(a):

- 1)- Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa;
- 2)- Manter sob sua guarda em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco anos), os dados da pesquisa contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP;
- 3)- Comunicar formalmente a este Comitê por ocasião do encerramento da pesquisa;
- 4)- Elaborar e apresentar relatórios parciais e final;
- 5)- Justificar perante o CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

VI – Data da reunião: 23 de abril de 2012

Assinatura do(a) Coordenador(a) CEP/UFG:

João Paulo de Souza
Prof. Dr. João Paulo de Souza
Coordenador do CEP/UFG
Rua 23, 111 - 111 - 111 - 111

ANEXO D – ANUÊNCIA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE GOIÂNIA



PREFEITURA MUNICIPAL DE GOIÂNIA
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
DIRETORIA DE ATENÇÃO À SAÚDE

Prefeitura
Goiânia
O Ambição que não se vê

DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA e TERMO DE COMPROMISSO

Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo de pesquisa intitulado “Efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da deficiência de ferro e anemia em crianças menores de um ano: estudo multicêntrico em cidades brasileiras”.

Declaro ainda, estar ciente da realização da pesquisa acima intitulada nas Unidades de Saúde da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia e autorizo esta instituição nessas condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.

DIRETORIA DE ATENÇÃO À SAÚDE DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE, em Goiânia, nos 17 dias do mês de agosto de 2011.



Dra. Cristina A. Borges P. Laval
Diretora de Atenção à Saúde
Decreto nº. 851/2011

Diretoria de Atenção à Saúde – Sede da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia
Av. da Consolação n. 998 – 2º Piso Bloco E – Park Lomas – Politélio das Casquinhas Prof. Venceslau de Freitas Borges, País
Municipal – Goiânia – GO. CEP: 74884-900

ANEXO E – NORMAS PARA ENVIO DE PUBLICAÇÃO – JOURNAL OF TRACE ELEMENTS IN MEDICINE AND BIOLOGY

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology will publish original papers, reviews, clinical notes, technical notes and short communications concerning trace elements in medicine and biology, including analytical methods, biochemistry, pathobiochemistry of metabolic processes, molecular biology, nutrition, toxicology, environmental toxicology, epidemiology, clinical applications in diagnosis, therapy, food chain and veterinary medicine. Manuscripts will be accepted in English only. Page charges This journal has no page charges.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication. Human and animal rights If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed. All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Declaration of interest All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/ registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest then please state this: 'Conflicts of interest: none'.

More information. Submission declaration and verification Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the

same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder.

To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck. Changes to authorship Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor.

To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

AUTHOR INFORMATION PACK

This journal offers authors a choice in publishing their research: open access and subscription. For subscription articles Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions.

Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>). Retained author rights As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>. Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>. Copyright Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author

confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases. For open access articles:

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license. Author rights As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information. Role of the funding source You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Funding body agreements and policies Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open access • Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse. • An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution. Subscription • Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.

No open access publication fee payable by authors. Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards. For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses: Creative Commons Attribution (CC BY) Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation. Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND) For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is USD 1800, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>. Green open access Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of

green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period.

This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. This journal has an embargo period of 12 months. Language (usage and editing services) Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these).

Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop. Informed consent and patient details Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication.

Written consents must be retained by the author and copies of the consents or evidence that such consents have been obtained must be provided to Elsevier on request. For more information, please review the Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Submission of Manuscripts Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance.

All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail. In exceptions, manuscripts can also be sent electronically to the Editorial Assistant: Christine Weidl E-mail: jtemb@redaktionsbuero-weidl.de Manuscripts should be submitted with an accompanying covering letter with permission to use illustrations that may identify human subjects and to use previously published illustrations. "Original Papers" should not exceed 20 double spaced typewritten pages. Maximum length of "Short Communications" is 6 typewritten pages including tables and figures. Submit your article Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jtemb>.

PREPARATION

Use of word processing software It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns.

The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure **Title page** The first page should contain: a concise title; the complete name(s) of the author(s); the name of the laboratory where the work was carried out; the postal address and e-mail-address to which correspondence (including proofs) should be sent; the full postal address(es) of (all) the author(s) in the language of the country of origin (in Latin transliteration); a short title (maximum 70 letters incl. spaces); a dedication (if any).

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
 - **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
 - **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.
 - **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.
- Subdivision - unnumbered sections** Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when crossreferencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction This should define the problem and, if possible, the frame of existing knowledge. Please ensure that people not working in your particular

field will be able to understand the intention. The word length of the introduction should be 150 to 300 words.

Material and methods Please be as precise as possible to enable other scientists to repeat your work. It is necessary to send a description of the applied methodology of the analysis of Trace Elements, in particular, the results of the accuracy checks must be provided. **Results** Only material pertinent to the subject must be included. Data must not be repeated in figures and tables.

Discussion and Conclusion This part should interpret the results in view of the problem outlined in the introduction and of related observations by yourself or others. Implications for further studies or application may be discussed.

A conclusion should be added if results and discussion are combined. **Appendices** If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Abstract A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files.

You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service. **Highlights** Highlights are a short collection of bullet points that convey the core findings of the article.

Highlights are optional and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site. **Keywords** Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of').

Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. **Abbreviations** Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa]. It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature The journal will follow the nomenclature rules of IUPAC and of the IUPAB-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, the recommendations of this commission for abbreviations and symbols, and the recommendations of the International Federation of Clinical Chemistry. Abbreviations not recommended by IUPAC, IUB and IFCC commissions should be kept to a minimum and should be listed on a separate page.

Units SI units should be used except in a few cases where non-SI units are more common, e.g. liter for volume (see the following table):  Selected symbols for quantities and units

Footnotes Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article.

Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork Image manipulation Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced.

Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available. You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here. Formats If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

10 Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG):

Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi. Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

The maximum type area is 17.7 cm width and 21.6 cm height. Figures should be designed to fit either one-column size (8.4 cm) or two-columns size (17.7 cm) in width. Figures must be ready for reproduction with clear lettering in suitable size. In addition to the printed version figures can be supplied in digital format (EPS or TIFF format, final resolution 300 dpi for halftones. 1270 dpi for black/white line drawings). For other formats (BMP, CDR, AI, FH, PDF, PS, PICT) all imported figures and type fonts need to be supplied as accompanying data. Color artwork Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution.

If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only.

Further information on the preparation of electronic artwork. Illustration services Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs.

Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more. Figure captions Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables Tables must be preceded by a concise and self-explanatory heading. Number tables consecutively in accordance with their appearance in

the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article. References Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa).

Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication. Reference links Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct.

Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged. A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <http://dx.doi.org/10.1029/2001JB000884j>.

Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper. Web references As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list. References in a special issue Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-trace-elements-in-medicine-and-biology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice. Reference style Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result' List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text. Examples: Reference to a journal publication: [1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book: [2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000. Reference to a chapter in an edited book: [3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304. Reference to a website: [4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13.03.03). Journal abbreviations source Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations. Video data Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research.

Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB.

Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content. Supplementary material Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more.

Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version.

Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages.

Database linking Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research.

Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). More information and a full list of supported databases. Data deposit and linking Elsevier encourages and supports authors to share raw data sets underpinning their research publication where appropriate and enables interlinking of articles and data. More information on depositing, sharing and using research data. Submission checklist The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review.

Please consult this Guide for Authors for further details of any item. Ensure that the following items are present: One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address All necessary files have been uploaded, and contain:
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes) Further considerations
- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet) Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white
- Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required.

For any further information please visit our Support Center. AFTER ACCEPTANCE Availability of accepted article This journal makes articles available online as soon as possible after acceptance. This concerns the accepted article (both in HTML and PDF format), which has not yet been copyedited, typeset or proofread.

A Digital Object Identifier (DOI) is allocated, thereby making it fully citable and searchable by title, author name(s) and the full text. The article's PDF also carries a disclaimer stating that it is an unedited article. Subsequent production stages will simply replace this version. Online proof correction Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version.

All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission

from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication.

Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Offprints The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication.

Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop. Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover. AUTHOR INQUIRIES Track your submitted article Track your accepted article You are also welcome to contact the Elsevier Contact Center.