

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Carmina Silva dos Santos

Efeito da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A  
no pós-parto imediato sobre as concentrações séricas de retinol das  
crianças menores de 6 meses em aleitamento materno

**RECIFE-PE**

**2011**

Carmina Silva dos Santos

Efeito da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A  
no pós-parto imediato sobre as concentrações séricas de retinol das  
crianças menores de 6 meses em aleitamento materno

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Nutrição do Centro de  
Ciências da Saúde da Universidade Federal  
de Pernambuco, para obtenção do título de  
Doutora em Nutrição.

Orientadora:

Prof<sup>ª</sup> Dra. Ilma Kruze Grande de Arruda.

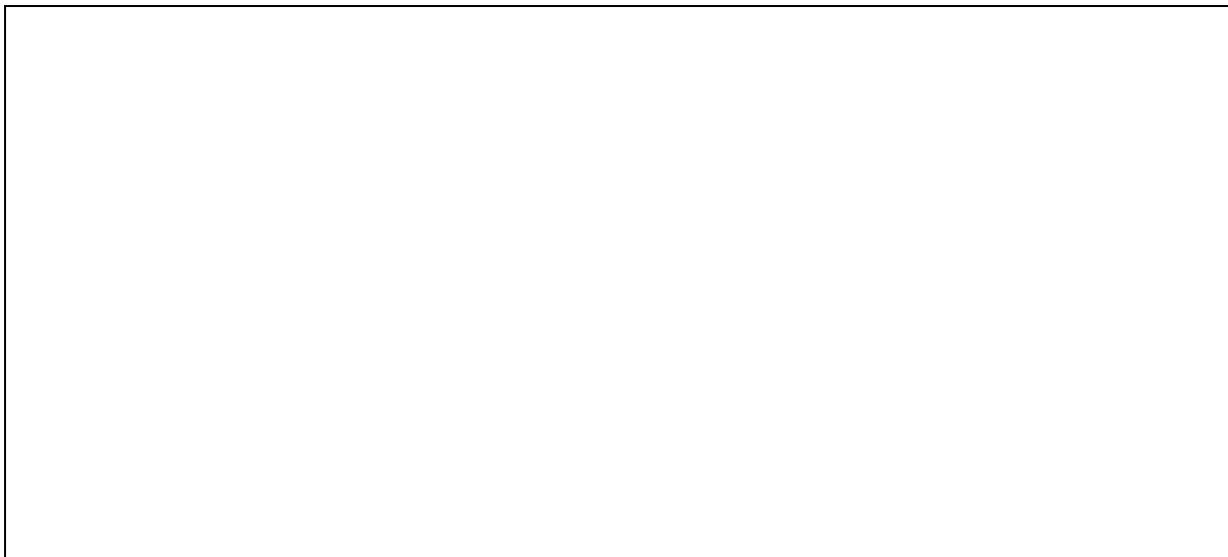
Co-Orientador:

Prof<sup>º</sup> Dr. Alcides da Silva Diniz.

**RECIFE - PE**

**2011**

Ficha catalográfica elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010



S237e

Santos, Carmina Silva dos.

Efeito da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no pós-parto imediato sobre as concentrações séricas de retinol das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno / Carmina Silva dos Santos. – 2011.

108 f.: il.; tab.; quad.; 30 cm.

Orientadora: Ilma Kruze Grande de Arruda.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2011.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Suplementação nutricional. 2. Crianças. 3. Vitamina A. 4. Ensaio clínico randomizado. 4. Retinol sérico. I. Arruda, Ilma Kruze Grande de (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2016-050)

**Carmina Silva dos Santos**

Efeito da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no pós-parto imediato sobre as concentrações séricas de retinol das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno

Tese aprovada em: 31/08/2011

**Banca examinadora**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria de Fátima da Costa Caminha

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ariane Impieri

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Luciana Perdosa Leal

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Adriana Paiva

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ilma Kruze Grande de Arruda

**RECIFE – PE**

**2011**

Aos meus pais: José e Lourdes, por todo amor a mim dedicado e pelo exemplo de honestidade e dignidade que deles levo por toda a vida.

A Petrus: a minha pedrinha mais preciosa, que desde o seu nascimento me fez entender o verdadeiro sentido da vida, daí então: é para você e por você que todos os meus projetos de vida estão direcionados.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Dom Supremo, quem nos impulsiona a cada dia, a cada minuto de nossas vidas, sem Ele, nada seria possível.

À Ilma Kruze que, além de orientadora, mostrou-se amiga em momentos difíceis durante esta caminhada. Levo também, além dos ensinamentos da pesquisa, o seu exemplo como grande mulher.

Às minhas fiéis amigas: Luciana Andreto e Taciana Fernandes, com as quais, durante o decorrer da pesquisa, dividi todo o tipo de emoção: angústias, tristezas e muitas alegrias também. Sem a presença delas a construção seria muito mais difícil!

Ao Prof. Alcides Diniz pela segurança transmitida nas suas considerações.

À equipe dos técnicos de pesquisa: Regina, Thiago, Débora, Francicleide, que tanto contribuíram para as tarefas realizadas durante a pesquisa.

À equipe do setor de vacina e puericultura do IMIP, que nos acolheu com muita disponibilidade e simpatia, durante o período de acompanhamento das crianças.

Às acadêmicas de Enfermagem da Faculdade Pernambucana de Saúde/IMIP: Luana, Hayanne e Lucicleide, as quais estiveram conosco durante todo o acompanhamento das crianças nas consultas de puericultura.

À Suzana, pela sua amizade e preocupação em todos os momentos, sempre me apoiando.

À Dra. Suely Arruda, pela sua disponibilidade e receptividade ao tirarmos as dúvidas mediante os casos de algumas crianças durante o seguimento do estudo, na puericultura.

Ao Profº Natal pela grande contribuição nas análises estatísticas.

A toda equipe de Coordenação de Enfermagem do IMIP, principalmente nas pessoas de Lannuze Gomes e Eliane Germano pelo apoio e compreensão durante a realização desta minha etapa de vida profissional.

À Maria de Jesus pelo seu compromisso com as suas atividades e por sempre estar disponível à equipe da pesquisa.

À Neci, secretária da Pós-Graduação, por sempre realizar o seu trabalho com muita simpatia e generosidade.

À equipe do CIMICRON, João Pessoa, pelo empenho nas análises do retinol.

Enfim, às mães por participarem e permitirem que suas crianças também fizessem parte deste estudo, dando a sua imensa contribuição.

A mente que se abre a uma nova idéia  
jamais voltará ao seu tamanho original.

**Albert Einstein**

## RESUMO

O objetivo desse estudo foi comparar o impacto da suplementação materna no pós-parto imediato, com 400.000 UI vs 200.000UI de vitamina A nas concentrações séricas de retinol da criança, e estimar o período do efeito protetor na manutenção das concentrações séricas de retinol nas crianças, identificar a prevalência de hipovitaminose A e anemia aos seis meses e verificar a associação entre as concentrações de retinol e hemoglobina na criança. Ensaio clínico, randomizado, controlado e triplo cego, de base hospitalar em duas maternidades públicas da cidade do Recife, Nordeste do Brasil, no período de agosto de 2007 a junho de 2009. Foram alocados 276 pares de mãe-filho, em dois grupos de suplementação: 400.000 UI ou 200.000 UI de vitamina A. As concentrações de retinol das crianças e materna foram analisadas pela cromatografia líquida de alta resolução-HPLC. Os resultados mostraram uma prevalência de 4,6% (IC<sub>95%</sub> 2,2 - 9,2) de baixas concentrações de retinol (< 0,70 µmol/L) e 72,9% (IC<sub>95%</sub> 66,6-79,7) de anemia (< 11g/dL) nas crianças aos seis meses e que houve associação entre o retinol sérico e hemoglobina (p=0,002). As médias das concentrações séricas de retinol foram semelhantes entre os dois grupos de suplementação (p = 0.514), e a média do retinol aos 2 meses foi significativamente menor que a média de retinol aos quatro meses (p < 0.001), mantendo um nível crescente até o sexto mês. Conclui-se que não foram detectados efeitos adicionais nas concentrações séricas de retinol das crianças após suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no pós-parto e que as concentrações de retinol sérico mostraram uma tendência crescente até o sexto mês. Os dados também apontaram para uma baixa prevalência de hipovitaminose A na população aos seis meses e houve uma alta prevalência de anemia nas crianças o que reforça ainda tratar-se de um problema de grande magnitude na população infantil.

**Palavras-chave:** Suplementação de vitamina A; Crianças; Ensaio clínico randomizado; Retinol sérico.

## ABSTRACT

The aims of the present study were 1) to compare the impact of maternal supplementation with 400,000 UI vs 200,000 UI of vitamin A in the immediate postpartum period on serum concentrations of retinol in newborns, 2) estimate the duration of the protective effect on the maintenance of serum concentrations of retinol, 3) determine the prevalence of vitamin A deficiency and anemia at six months of age and 4) determine the association between concentrations of retinol and hemoglobin in infants. A hospital-based, randomized, controlled, triple-blind, clinical trial was carried out at two public maternities in the city of Recife (northeastern Brazil) between August 2007 and June 2009. A total of 276 mother/child pairs were divided into two groups: supplementation with 400,000 UI or 200,000 UI of vitamin A. Retinol concentrations in the infants and mothers were analyzed through high-resolution liquid chromatography. The results reveal a 4.6% (95%CI: 2.2 to 9.2) prevalence of low concentrations of retinol ( $< 0.70 \mu\text{mol/L}$ ) and a 72.9% (95%CI: 66.6 to 79.7) prevalence of anemia ( $< 11 \text{ g/dL}$ ) in the infants at six months of age. A significant association was found between serum retinol and hemoglobin ( $p = 0.002$ ). Serum concentrations of retinol were similar between the two supplementation groups ( $p = 0.514$ ). Mean retinol at two months of age was significantly lower than at four months of age ( $p < 0.001$ ) and maintained an increasing level through to six months of age. In conclusion, no additional effects on the serum concentrations of retinol in infants were detected following maternal supplementation with a double megadose of vitamin A in the postpartum period and serum retinol concentrations demonstrated an increasing tendency through to six months of age. The data also point to a low prevalence of vitamin A deficiency and high prevalence of anemia in the infants at six months of age, demonstrating that anemia remains a huge problem in the child population.

**Keywords:** Vitamin A supplementation; Children; Randomized clinical trial; Serum retinol.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

**Figura 1** – Fluxograma da pesquisa

**Figura 2** – Fluxograma de distribuição da amostra das crianças/perdas de seguimento dos participantes da pesquisa. Recife-PE, 2007/09.

**Tabela 1.** Distribuição de perdas das crianças segundo o grupo de suplementação. Recife-PE, 2007/09.

**Tabela 2.** Comparação das características das crianças seguidas no estudo com o grupo das perdas de seguimento. Recife-PE, 2007/09.

**Quadro 1** - Variáveis dependentes

## **LISTAS DE ABREVIATURA E SIGLAS**

AIDS - Síndrome de Imunodeficiência Adquirida  
AIG - Adequado para Idade Gestacional  
CIMICRON- Centro de Investigações em Micronutrientes  
HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Resolução  
DVA - Deficiência de vitamina A  
GEE - Generalized Estimation Equations  
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana  
IMIP - Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira  
INAN - Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição  
IVACG - International Vitamin A Consultative Group  
MCT - Ministério de Ciência e Tecnologia  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
OPS - Organização Panamericana de Saúde  
QFA - Questionário de Frequência Alimentar  
RBP - Proteína Ligadora de Retinol  
RNPT- Recém-Nascido Pré-Termo  
PNDS - Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher  
PESN - Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição  
RNs - Recém-Nascidos  
SPSS - Statistical Package for Social Science  
SUS - Sistema Único de Saúde  
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
WHO - World Health Organization

## SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4 MÉTODOS.....	27
4.1 Desenho do estudo.....	27
4.2 Amostragem.....	27
4.3 População e local do estudo.....	27
4.4 Seleção da amostra.....	28
4.5 Coleta de dados.....	29
4.5.1 Procedimentos para seleção da amostra.....	29
4.5.2 Randomização e dose de suplementação.....	30
4.5.3 Procedimentos e acompanhamento dos participantes.....	31
4.5.4 Padronização da coleta de dados.....	38
4.6 Análise dos dados.....	42
4.7 Viabilidade financeira.....	42
4.8 Considerações éticas.....	43
5 RESULTADOS.....	44
5.1 Artigo 1.....	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS.....	61
APÊNDICES.....	66
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
APÊNDICE B - Manual do pesquisador	
APÊNDICE C - Formulário triagem	
APÊNDICE D - Formulário PPP	
APÊNDICE E - Formulário Primeira Consulta de Puericultura (8 Dias)	
APÊNDICE F - Formulário Consulta de Puericultura (1, 2 ,3 ,4, 5 e 6 Meses)	
APÊNDICE G - Artigo original submetido ao periódico: <i>Public Health Nutrition</i>	
ANEXOS.....	97
ANEXO A: Normas para submissão de manuscritos para o Jornal de Pediatria	
ANEXO B - Normas para submissão de manuscritos para o <i>Public Health Nutrition</i>	
ANEXO C - Carta de anuência Maternidade Prof. Bandeira Filho	
ANEXO D - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira, IMIP.	

## 1 APRESENTAÇÃO

Os distúrbios do estado nutricional durante a infância podem ter causalidade múltipla. Predominam nos países em desenvolvimento as deficiências alimentares — em especial de micronutrientes que são fatores de risco para a saúde e sobrevivência de grupos vulneráveis, como crianças em idade pré-escolar. Dentre as deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica, a deficiência de vitamina A ainda hoje assume graves proporções no contexto da saúde pública em todo o mundo. A deficiência prolongada dessa vitamina causa alterações no revestimento ocular, levando a um quadro de cegueira irreversível (xerofthalmia e ceratomalácia). Além disso, a vitamina A encontra-se associada à integridade epitelial e às funções imunes, sendo sua deficiência responsável por um aumento no risco de morbidade e mortalidade na infância (UNDERWOOD, 1994; MARTINS et al., 2007).

As formas subclínicas da deficiência de vitamina A estão associadas a alterações no metabolismo do ferro, distúrbios na diferenciação celular e depressão da resposta imune (BHASKARAM, 2001). Essas alterações, menos evidentes, têm sido implicadas no aumento da prevalência e complicações de infecções do trato respiratório, na doença diarreica e na deficiência de outros micronutrientes (UYSAL et al., 1999; SEMBA, 2002).

Considerando que crianças menores de 6 meses constituem um grupo de risco importante, principalmente para a xerofthalmia com comprometimento corneal (DINIZ; SANTOS, 2000; DRICOT-D'ANS et al., 1988), elas podem ficar desprotegidas se forem desmamadas precocemente ou mesmo se o conteúdo de vitamina A no leite materno for inadequado (MILLER et al., 2002). Sabe-se que as concentrações de vitamina A no leite materno dependem das reservas orgânicas de vitamina A da nutriz. Logo, em países em desenvolvimento, baixa reserva materna de vitamina A, combinada com a demanda desse micronutriente durante a gravidez e a lactação, podem levar à deficiência de vitamina A em crianças amamentadas (UNDERWOOD, 1994). Por outro lado, aceita-se que a ingestão de concentrações elevadas de vitamina A, durante a gravidez, pode apresentar efeitos teratogênicos (DIBLEY; JEACOCKE, 2001).

Nesse sentido, a megadose administrada no pós-parto imediato seria uma intervenção segura, no que diz respeito aos potenciais riscos de teratogenicidade, e teria a vantagem de prevenir contra os eventuais efeitos colaterais de um quadro de toxicidade, quando dada diretamente ao recém-nascido (KIRKWOOD, 2001). Por outro lado, tem sido documentado que a deficiência de vitamina A é uma carência nutricional importante também em mulheres

no ciclo reprodutivo (WEST, 2002), podendo se manifestar inclusive na sua forma clínica de cegueira noturna (CHRISTIAN, 2002) e que a suplementação preventiva com vitamina A parece reduzir, significativamente, a mortalidade materna (WEST, 2002).

Tomando como base esses resultados, o *International Vitamin A Consultative Group* (IVACG) tem endossado a recomendação (DE BENOIST et al., 2001) da suplementação de 400.000 UI de vitamina A pós-parto fracionada em 2 doses. Entretanto, ainda são escassos os estudos que avaliam esta intervenção e seus potenciais efeitos benéficos nas crianças nos seis primeiros meses de vida.

Diante desse contexto, como se encontram as concentrações de retinol das crianças antes de receber a primeira dose de vitamina A (100.000 UI) aos seis meses de vida? A suplementação de puérperas com 400.000 UI de vitamina A promove um efeito adicional sobre as concentrações séricas de retinol nas crianças em aleitamento materno durante os 6 primeiros meses de vida em relação aos filhos de puérperas suplementadas com 200.000 UI?

Assim, o presente trabalho tem como objetivos: comparar o efeito da suplementação materna com 400.000 UI de vitamina A (proposta pelo IVACG) *versus* 200.000 UI (protocolo da Organização Mundial de Saúde - OMS); estimar o período do efeito protetor da suplementação de vitamina A materna na manutenção das concentrações séricas de retinol adequadas de seus lactentes; determinar as concentrações de hemoglobina nas crianças aos seis meses e verificar a associação entre as concentrações de retinol sérico.

Para tais fins, foram utilizados os dados primários da pesquisa “Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no *post partum* imediato sobre o estado nutricional de vitamina A e ferro no binômio mãe-filho e no crescimento e morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno”, realizado no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira- IMIP e Maternidade Bandeira Filho no período de agosto de 2007 à junho de 2009.

Dos resultados dessa pesquisa, foram elaborados dois artigos, sendo o primeiro intitulado “Concentrações de retinol sérico e de hemoglobina em crianças aos seis meses de idade, atendidas em um serviço de puericultura da cidade do Recife”, submetido ao *Jornal de Pediatria*, cujas respectivas normas encontram-se no Anexo A. Este manuscrito identifica as concentrações de retinol sérico e hemoglobina aos seis meses e verifica a associação entre estes micronutrientes.

O segundo artigo teve como título “Efeito da suplementação materna com a dupla megadose de vitamina A sobre as concentrações séricas de retinol das crianças nos primeiros

seis meses”, submetido ao *Public Health Nutrition*, cujas normas estão dispostas no Anexo B. Este artigo apresenta uma curva das concentrações séricas de retinol das crianças até o sexto mês de vida de acordo com os grupos de suplementação materna com a megadose de vitamina A.

Um estudo multicêntrico, financiado pela OMS, mostrou que a suplementação materna com apenas uma única megadose de vitamina A (200.000 UI de palmitato de retinol), como é recomendado atualmente pelo Ministério da Saúde do Brasil, parece não ser suficiente para assegurar níveis adequados, ou mesmo aumentar as concentrações de retinol no leite materno e, por conseguinte, no soro e nas reservas hepáticas de recém-nascidos amamentados por essas nutrizes (BRASIL, 2004; WHO/CDH, 1998). Ensaio clínico e modelos cinéticos têm indicado que suplementos com maior dosagem de vitamina A têm elevado o status orgânico de vitamina A de crianças no período neonatal (MILLER et al., 2002; ROSS, 2002).

Tomando como base esses resultados, o *International Vitamin A Consultative Group* tem endossado aos programas de combate à deficiência de vitamina A a recomendação da suplementação de 400.000 UI de vitamina A no pós-parto imediato, fracionada em duas doses, com pelo menos um intervalo de 24 horas entre as doses (DE BENOIST, 2001). No entanto, a eficácia desse esquema de intervenção ainda não foi devidamente avaliada quanto aos seus potenciais efeitos benéficos para a saúde e nutrição das mães, bem como das crianças nos seis primeiros meses de vida, em regime de aleitamento materno.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### Vitamina A: definição

Os compostos da vitamina A (retinóides) pertencem a uma classe de polímeros isoprenóides biologicamente ativos envolvidos na visão, crescimento e reprodução das espécies de animais superiores. A vitamina A está presente em três formas naturais: retinol, retinaldeído e ácido retinóico. O retinol (álcool da vitamina A) é um componente dietético presente na forma de retinil éster em fontes alimentares de origem animal e também é formado *in vivo* a partir do seu precursor  $\beta$ -caroteno, que está presente em fontes alimentares de origem vegetal (CHISWICK et al., 1991).

Os retinil ésteres são derivados da esterificação do retinol e constituem a principal forma de estocagem da vitamina A. Os retinil ésteres mais encontrados nos tecidos de animais e seres humanos são retinil palmitato e estearato e, em menor quantidade, oleato e linoleato. O retinaldeído, também chamado retinal, é derivado da oxidação reversível do retinol e, em combinação com várias lipoproteínas, forma o pigmento visual da retina. Enquanto os retinil ésteres são hidrolizados a retinol livre na luz intestinal, o  $\beta$ caroteno é absorvido como tal, quebrado na mucosa, originando duas moléculas de retinaldeído, e reduzido a retinol (CHISWICK et al.,1991).

### Aspectos gerais do metabolismo da vitamina A

O retinol só pode ser encontrado em tecidos animais, tendo como fontes alimentares principais o fígado, o óleo de fígado de peixe, o leite integral e derivados, os ovos e as aves. Nos países desenvolvidos, considerando-se uma dieta habitual, aproximadamente 25% da vitamina A ingerida o é em forma de carotenóide, enquanto 75% é composto de vitamina A preformada (LI; NORRIS, 1996).

A absorção do retinol é quase integral em condições de normalidade do aparelho gastrointestinal, observando-se que sua absorção e de seus ésteres é mais completa em jejum e se administrados com soluções aquosas (MAHAN; STUMP, 2000).

Após a absorção do retinol, ocorre a conjugação do mesmo ao ácido glicurônico, seguida da entrada na circulação êntero-hepática, onde resultam dois produtos, a esterificação

do retinol originando ésteres de retinil ou a oxidação do retinol originando o ácido retinóico (MAHAN; STUMP, 2000).

O armazenamento da vitamina A é feito sob forma de ésteres de retinil e cerca de 50-80% da vitamina A no corpo é estocada no fígado onde é ligada à proteína ligadora de retinol (RBP). Esse estoque regula os efeitos de variabilidade nas taxas de ingestão de vitamina A, principalmente em situações em que haja riscos de deficiência durante os períodos de baixa ingestão dessa vitamina (MAHAN; STUMP, 2000).

Este micronutriente pode ser mobilizado do fígado para distribuição aos tecidos periféricos na dependência da oferta do aporte alimentar. Sendo esta distribuição deficiente, esse processo envolve a hidrólise de ésteres de retinil, fazendo com que o fígado mantenha uma concentração constante de sua forma ativa na circulação. A ligação de retinol a um transportador específico, a RBP, que circula no plasma em um complexo com transtiretina (pré-albumina), impede a excreção do complexo retinol-RBP na urina redução (MAHAN; STUMP, 2000).

Os valores aceitáveis para as concentrações de retinol no plasma são de 30 a 70  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (1,04 $\mu\text{mol}/\text{L}$  a 2,43 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ). Porém, em indivíduos saudáveis, o retinol plasmático é mantido dentro de uma variação estreita de 1,39 a 1,73 $\mu\text{mol}/\text{L}$  (40,1 a 49,9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) em adultos e aproximadamente metade desses valores nas crianças. Uma vez que a síntese hepática da RBP depende da presença tanto de zinco quanto de aminoácidos e de níveis de retinol plasmático, os níveis da RBP podem ser afetados por diferenças daqueles nutrientes bem como deficiência crônica da vitamina A grave o suficiente para depletar estoques de ésteres de retinil hepático (BOOTH; JOHN; KUHNLEIN, 1992).

Assim, é comum encontrar baixos níveis circulantes de retinol em crianças com desnutrição protéico-calórica, as quais podem não responder à suplementação de vitamina A (VANNUCCHI, 1991). Desse modo, o retinol não é eliminado na urina e é excretado sob forma inalterada somente em casos de nefrite crônica. Quando altas doses de vitamina A são administradas é que certa proporção sofre excreção sob forma inalterada nas fezes(MAHAN; STUMP, 2000).

## **Transferência de vitamina A durante a gestação**

Underwood (1994) relata que, durante o período gestacional, as concentrações de vitamina A no sangue de cordão e fígado fetal são relativamente constantes, mesmo com uma ampla variação nos níveis maternos, demonstrando que, normalmente, o suprimento fetal de vitamina A é regulado com uma margem de segurança, exceto em situações de extrema deficiência ou excesso, sendo esse rigoroso controle exercido pela placenta. O ácido retinóico desempenha papel importante no período embrionário, atuando mais especificamente no desenvolvimento do coração, olhos e ouvidos.

Trabalhos experimentais sugerem que a ingestão tanto deficiente quanto excessiva de vitamina A no período gestacional está associada a defeitos congênitos cerebrais, oculares, auditivos, do aparelho gênito-urinário e cardiovascular, podendo promover reabsorção de embriões e, até mesmo, a morte fetal, sendo a associação entre a deficiência de vitamina A (DVA) e a perda reprodutiva também descrita em humanos (VANNUCCHI, 1991).

Sabe-se que, durante a gestação, as reservas fetais de vitamina A são limitadas e acredita-se que esse fenômeno esteja relacionado com a seletividade da barreira placentária que atua regulando a passagem dessa vitamina da mãe para o feto, provavelmente para evitar efeitos teratogênicos. Tal mecanismo favorece a baixa reserva hepática de vitamina A no recém-nascido, independente da ingestão materna, com exceção em casos de ingestão excessiva ou deficiência materna grave (SILVA et al., 2007).

A transferência de vitamina A para o feto ocorre por difusão simples, ligada a um complexo protéico envolvendo duas proteínas, a pré-albumina (transtirretina -TTR) e a RBP. Estudos referem a presença de receptores de membrana para RBP em placentas humanas (DANCIS, 1992; SILVA et al., 2007).

A transferência placentária relacionada à RBP e associada à deglutição do líquido amniótico representa as primeiras fontes de vitamina A para o feto no período gestacional. A placenta assegura um adequado suprimento de vitamina A para o feto, devido a capacidade adaptativa para variações na ingestão materna de vitamina A, exceto em situações extremas de ingestão excessiva ou em caso de deficiência severa. Acredita-se que a DVA subclínica não exerça efeito na circulação fetal de retinol e carotenóides (DARCIE et al., 1997).

O conteúdo de vitamina A no leite humano é variável e influenciado por vários fatores como: idade, paridade e situação socioeconômica da mãe, idade pós-parto, volume e conteúdo gorduroso do leite. A concentração de vitamina A no colostro é elevada (>331 UI/dL ou >99mcg/dL) e diminui gradualmente nos primeiros meses de lactação; já concentração do

leite maduro varia de 110 a 257 UI/dL (33 a 77mcg/dL). O leite de mães de RNPT (recém-nascido pré-termo) tem menor concentração de vitamina A na lactação precoce, mas ela suplanta a do leite de termo em torno da segunda semana de lactação (300UI/dL ou 90mcg/dL) (DIMENSTEIN et al., 1996).

A formação de reservas fetais de vitamina A se inicia durante o último trimestre de gestação e, após o nascimento, necessita de vários meses de ingestão adequada para construir suas reservas (SILVA et al., 2007). Normalmente, a transferência de vitamina A da mãe para o filho é 60 vezes maior durante os seis meses de lactação, quando comparada à transferência ocorrida durante os nove meses gestacionais, sendo a concentração de vitamina A no leite materno suficiente para suprir as necessidades diárias, supondo-se o estabelecimento de amamentação plena (RAMALHO et al., 1998).

Constata-se, assim, que o leite materno é de suma importância e deve-se ressaltar que o seu conteúdo de Vitamina A é influenciado pelo estado nutricional de Vitamina A materno. Portanto, caso o leite seja proveniente de nutrízes com dieta pobre em vitamina A, desnutridas ou, caso a criança seja desmamada precocemente, as reservas do recém-nascido serão baixas e aumentarão as probabilidades de desenvolvimento de DVA (VINUTHA et al., 2000; SILVA et al., 2007).

Pelo fato do leite materno ser a única fonte de vitamina A durante o período neonatal para lactentes em aleitamento materno exclusivo, a capacidade em atingir as necessidades do RN depende da concentração e do volume de leite consumido, ambos influenciados pelo estado nutricional e ingestão alimentar maternos (VINUTHA et al., 2000). Contudo, a deficiência na nutríz pode acarretar transferência inadequada para a criança e perpetuação da DVA com manifestações de carência subclínica e sinais clínicos já nos seis primeiros meses de vida, e desenvolvimento de queratomalácia antes do primeiro ano (VINUTHA et al., 2000).

Sabe-se que as necessidades de vitamina A da mulher durante a lactação excedem as necessidades da gestação para reposição das perdas diárias ocorridas na transferência para o leite humano (UNDERWOOD, 1994). Desse modo, a suplementação de vitamina A em nutrízes tem sido descrita como medida para melhorar o estado nutricional de vitamina A das mães e aumentar o teor de vitamina A do leite humano. Conseqüentemente, melhora-se a disponibilidade da vitamina para os menores de seis meses de idade, contribuindo para a diminuição da duração de infecções respiratórias e febre nos lactentes (CHRISTIAN et al., 2001).

### **Possíveis causas da deficiência de vitamina A**

Dentre as possíveis explicações para os níveis baixos de vitamina A no cordão de recém-nascidos com retardo de crescimento intra-uterino, quando comparados com recém-nascidos considerados de peso adequado para idade gestacional, os seguintes fatores merecem destaque: a oferta inadequada de vitamina A pela mãe, secundária ao comprometimento da circulação útero-placentária; baixo poder de ligação de vitamina A pelo feto, devido às baixas concentrações das proteínas responsáveis pelo transporte de vitamina A pelo tecido placentário e pela RBP (com isso a vitamina não será captada pelo fígado fetal, resultando em baixos níveis de vitamina A plasmática); maior utilização de vitamina A pelo feto, relacionada com a presença de infecções intra-uterinas, pois as infecções agudas e crônicas aumentam a taxa catabólica e a excreção de vitamina A; e ainda o armazenamento insuficiente e inadequado de vitamina A pelo fígado fetal, relacionado a presença de anormalidades estruturais e funcionais no fígado de recém-nascido com retardo do crescimento intra-uterino, sendo estas alterações possivelmente associadas com a depleção das células hepáticas armazenadoras de vitamina A (RONDÓ et al., 1997).

Dentre as principais situações que precipitam deficiência de vitamina A estão a ingestão inadequada dos alimentos fontes, má-absorção ou ainda excreção urinária desse micronutriente. De especial interesse, documenta-se que a deficiência de proteína interfere com o transporte da vitamina A no sangue, mesmo quando a ingestão é adequada. Adicionalmente, quando ocorre má-absorção dos lípidos há frequente redução da absorção da vitamina A (SOMMER; TARWOTJO; KATZ, 1987).

As crianças têm seu risco potencial aumentado para o desenvolvimento da DVA quando os seguintes fatores estão presentes: DVA materna resultando em baixas concentrações de vitamina A no leite materno e ingestão inadequada de vitamina A durante e após o desmame e a presença simultânea de doenças prevalentes na infância, principalmente as infecciosas, como a diarreia, que é muito prevalente nas crianças de países em desenvolvimento (UNDERWOOD, 1994).

A relação sinérgica entre infecções e o comprometimento do estado nutricional de vitamina A é bem estabelecida. As infecções reduzem o apetite, aumentam as necessidades de vitamina A e contribuem para a depleção das reservas orgânicas da vitamina, causando diminuição sérica e precipitando o aparecimento da xeroftalmia que pode evoluir rapidamente para a cegueira irreversível (SOMMER; TARWOTJO; KATZ, 1987).

### **Interação da vitamina A e ferro**

A anemia em consequência da deficiência de vitamina A tem sido, atualmente, objeto de crescente interesse investigativo. A sua patogênese parece ocorrer mediante diversos mecanismos biológicos, tais como efeito no crescimento e diferenciação das células eritrocitárias progenitoras, na imunidade às infecções e na mobilização do estoque de ferro dos tecidos (SEMBA, 2002).

A deficiência de ferro também influencia os níveis séricos de retinol, pois se considera que sua carência pode comprometer o funcionamento normal da mucosa intestinal, dificultando a absorção da vitamina A proveniente da dieta e prejudicando a sua biodisponibilidade. (SHATRUGNA et al., 1997; PALAFOX et al., 2003) Em contrapartida, há uma correlação entre a DVA e a anemia, visto que a suplementação dessa vitamina aumenta a mobilização hepática de ferro, estimulando a eritropoiese. A suplementação de vitamina A, juntamente com a de ferro, durante a gestação, tem sido sugerida para otimizar a absorção da vitamina A dietética pela melhora da função da mucosa intestinal, que pode estar comprometida na anemia ferropriva (SUHARNO et al., 1993; SHATRUGNA et al., 1997; PALAFOX et al., 2003)

### **Aspectos epidemiológicos da hipovitaminose A**

A DVA, clínica ou subclínica, tem abrangente distribuição geográfica, especialmente, nos países em desenvolvimento. A OMS identificou 73 países onde essa carência nutricional em crianças menores de cinco anos, entre 1995 e 2005, é classificada como problema grave de saúde; em 49, esta deficiência é considerada problema moderado, inclusive o Brasil. A deficiência, principalmente com manifestações clínicas incapacitantes, é registrada na Ásia Meridional e em boa parte do continente africano (WHO, 2009).

Atualmente, cerca de 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de gestantes apresentam DVA no mundo. Para o Brasil, a estimativa é de que 13,3% das crianças são afetadas por essa carência nutricional (WHO, 2009). Prevalência similar (17,4 %) foi encontrada pela Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (BRASIL, 2009) realizada com crianças de 6 a 59 meses, sendo o Nordeste e Sudeste do País as regiões mais afetadas (BRASIL, 2009). Nos últimos 10 anos, revisões de literatura já indicavam que a

DVA constituía-se num problema de saúde em várias regiões do País, atingindo principalmente os pré-escolares. (DINIZ; SANTOS, 2000; RAMALHO; ANJOS; FLORES, 2001; GERALDO et al., 2003).

Estudo realizado no Vale do Jequitinhonha-MG, região do País considerada endêmica em DVA, identificou sinais clínicos da deficiência desse micronutriente nas crianças avaliadas, ultrapassando os níveis críticos adotados pela OMS para que a carência seja considerada problema de saúde pública (ARAÚJO et al., 1986). Atualmente, o problema nessa região ainda persiste. Estudo realizado nos municípios de Novo Cruzeiro e Francisco Badaró com crianças de 6 a 71 meses, identificou prevalências de hipovitaminose A de 11,5% e 18,2% respectivamente, observando maior chance de desenvolvimento dessa carência nas crianças menores de 2 anos e de menor estatura (TEIXEIRA, 2010).

Em Campinas-SP, estudo envolvendo crianças de três a dez anos de idade, em 18 comunidades de baixas condições socioeconômicas, estimou prevalência de 6,9% de níveis séricos de retinol  $< 0,70 \mu\text{mol/L}$  nos pré-escolares (GONÇALVES-CARVALHO et al., 1995). Nesta mesma cidade, foi realizado estudo caso-controle com 712 pares de mãe/filho para investigar a associação entre os níveis de vitamina A maternos e no cordão umbilical de recém-nascidos com retardo do crescimento intrauterino e peso adequado para idade gestacional (AIG), sendo observada prevalência de 14,6% de baixos níveis de retinol nos recém-nascidos AIG (RONDÓ; ABBOTT; TOMKINS, 1997)

No Rio de Janeiro, estudo realizado no período de 1995-1996 em 2 maternidades públicas identificou prevalência de 26,5 % de níveis baixos de retinol ( $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ) no sangue do cordão umbilical de recém-nascidos (RAMALHO; ANJOS; FLORES, 1998). Posteriormente, foi avaliado o sangue do cordão umbilical de 286 recém-nascidos de uma maternidade-escola no mesmo município apresentando prevalência de 28,0% de deficiência de vitamina A ( $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ) (RAMALHO et al., 2006).

Entretanto, o problema carencial foi melhor caracterizado na Região Nordeste. De uma forma geral, os estudos caracterizaram a hipovitaminose A no Nordeste como importante problema de saúde pública de moderado a grave, principalmente na região semiárida (SANTOS et al., 1996). Um estudo clínico-nutricional realizado no Estado da Paraíba, 1981-2, envolvendo as três mesorregiões bio-climáticas do Estado, demonstrou uma prevalência significativamente elevada de manchas de *Bitot* e cicatrizes corneais na mesorregião do sertão, principalmente, no período da entressafra (SANTOS et al., 1983).

Manifestações clínicas de xerofthalmia moderada, bem como sequelas cicatriciais, foram também documentadas na Paraíba em crianças de 2 a 28 meses de idade, em anos

subsequentes, sobretudo na seca prolongada de 1981 a 1984 (ARAÚJO et al., 1986; DRICOT-D'ANSet al., 1988). Em 1986, evidências de xerofthalmia também foram observadas no Rio Grande do Norte (MARIATH et al., 1989). Estudos realizados nos Estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Bahia, nos anos de 1987-1991, mostraram prevalências de 35,5%, 16,0%, 34,1% e 55,1%, respectivamente, de níveis séricos de retinol abaixo de  $0,70\mu\text{mol/L}$  em crianças pré-escolares (McAULLIFE et al., 1991). Foi também relatada a ocorrência, em 1989, de elevada prevalência de níveis séricos de retinol inadequados e de baixo consumo de alimentos fonte de vitamina A, em áreas urbanas do semiárido baiano (SANTOS et al., 1996).

No Estado de Pernambuco, evidências clínicas (KELNER, 1966) e, sobretudo, bioquímicas da hipovitaminose A têm sido documentadas a partir da década de 70, tanto pela determinação das concentrações hepáticas (FLORES; ARAÚJO, 1984), quanto dos níveis séricos de retinol (GOMES et al., 1970; BATISTA FILHO et al., 1973; BATISTA FILHO; TORRES, 1982). Um estudo realizado na cidade do Recife, em crianças menores de 7 anos, mostrou elevado número de xerose cutânea e conjuntival, principalmente na faixa etária de 3 a 7 anos (SOBREIRA, 1987). Posteriormente, foi observado baixo consumo alimentar de vitamina A e níveis baixos de retinol sérico em mais de 30,0 % dos pré-escolares de uma cidade do agreste pernambucano (FLORES et al., 1988).

Na década seguinte, os dados da II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição – Pernambuco (II PESN/98) – já indicavam prevalência de 16,0 % no Estado em crianças menores de cinco anos e 12,2 % na Região Metropolitana do Recife (ANDRADE, 2000). Em Recife, a prevalência de DVA nas crianças de 6 a 59 meses de creches públicas foi de 7,0 % em 1999 (FERNANDES et al., 2005) e 7,7% em 2007 (AZEVEDO et al., 2010). Entretanto, deve-se considerar que essas pesquisas foram realizadas com crianças institucionalizadas, o que possivelmente contribui para um melhor estado nutricional devido a maior regularidade na alimentação.

Em Teresina-PI foi observada a prevalência 15,4 % de concentrações de retinol  $< 0,70\mu\text{mol/L}$  em crianças de 36 a 83 meses de idade matriculadas em creches comunitárias da cidade (PAIVA et al., 2006) e associação positiva desses níveis com a idade da criança, escolaridade materna, a renda per capita e suplementação prévia de vitamina A.

Atualmente, percebe-se uma redução nos relatos de sinais clínicos dessa carência nutricional, embora a DVA subclínica ainda seja motivo de preocupação. Um estudo realizado em Sergipe, envolvendo 607 crianças de 6 a 60 meses de idade encontrou prevalência de deficiência de vitamina A de 32,1%, dos quais 22,5% dos pré-escolares

apresentaram níveis séricos de retinol considerados baixos (0,35 a 0,69  $\mu\text{mol/L}$ ) e 9,6% deficientes ( $< 0,35 \mu\text{mol/L}$ ) (MARTINS; SANTOS; ASSIS, 2004).

Já o estudo realizado na região semiárida de Alagoas com 652 crianças menores de cinco anos identificou uma prevalência de 44,9% de hipovitaminose A nessa população e 44,8% nas crianças menores de 12 meses (VASCONCELOS; FERREIRA, 2009), configurando problema grave de saúde nessa região.

### **Suplementação de vitamina A**

Durante a lactação, em áreas onde a DVA é endêmica, a suplementação de dose maciça (200.000 UI ou 60.000  $\mu\text{g}$  de Retinol) de vitamina A é recomendada nos 28 primeiros dias pós-parto, para as mães que não amamentam seu filho, pois o risco de nova gravidez nesse período é pequeno. Para as mães que amamentam, a suplementação de dose maciça é recomendada nos 60 primeiros dias pós-parto, devido ao efeito anticoncepcional conferido pela amamentação (BRASIL, 2004). Porém, quando ocorrer a volta da menstruação, a mulher é considerada em período fértil, sendo contraindicado o uso de doses maciças.

No Brasil, o Ministério da Saúde instituiu, através da Portaria 729 de 13 de maio de 2005, o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, intitulado “Vitamina A Mais”, cuja finalidade é reduzir e controlar a DVA em crianças e mulheres no pós-parto imediato, residentes nas áreas consideradas de risco para a deficiência (Nordeste, região norte de Minas Gerais, Vale do Jequitinhonha, Vale do Murici, e Vale do Ribeira em São Paulo) (BRASIL, 2004).

O referido programa prevê para as mulheres no pós-parto imediato a suplementação com dose única de 200.000 UI de vitamina A, ainda na maternidade. Para crianças com idade entre 6 e 59 meses, esta dose deve ser realizada de acordo com a idade a cada seis meses. Além dessas medidas, que têm o seu monitoramento na Caderneta de Saúde da Criança, recomenda-se como estratégias de intervenção adicionais para o combate à DVA nas áreas reconhecidas como de risco ações como promoção do aleitamento materno e da alimentação saudável com estímulo ao consumo de alimentos fontes pela população (OPS, 2001).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Comparar as concentrações de retinol sérico de crianças de mães suplementadas com 400.00UI de vitamina A no pós-parto *versus* 200.000 UI.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar as concentrações de retinol sérico nas crianças aos seis meses;
- Comparar as concentrações séricas de retinol das crianças em quatro pontos: ao nascimento, aos dois, aos quatro e aos seis meses de vida, de acordo com os grupos de suplementação;
- Estimar o período do efeito protetor da suplementação de vitamina A materna na manutenção das concentrações séricas de retinol adequadas de seus lactentes;
- Determinar as concentrações de hemoglobina nas crianças aos seis meses e verificar a associação com as concentrações séricas de retinol.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 Desenho do estudo

Este é um estudo tipo ensaio clínico, triplamente mascarado, controlado, randomizado, de base hospitalar, realizado a partir de informações primárias do binômio mãe/filho pertencentes à pesquisa intitulada: “Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no *post partum* sobre o estado nutricional de vitamina A e ferro no binômio mãe-filho e no crescimento e na morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno”. Esta pesquisa foi viabilizada mediante convênio com o Ministério de Ciência e Tecnologia (convênio 01200.006980/2005 MCT), Ministério da Saúde (convênio n.4807/2005) e o Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP.

### 4.2 Amostragem

O tamanho da amostra foi calculado pela fórmula:

$$(u + v)^2 (dp_1^2 + dp_2^2) / (\alpha_1 - \alpha_2)^2 \text{ (KIRKWOOD; STERNE, 2005)}$$

Tomando-se como base os pressupostos de um erro  $\alpha = 5\%$  ( $u$ ), erro  $\beta = 10\%$  ( $v$ ), o desvio padrão da distribuição das concentrações de retinol sérico, nos dois grupos de tratamento ( $dp_1$  e  $dp_2$ ) igual a  $0,5 \mu\text{Mol/L}$  (Flores et al., 1991) e a diferença entre médias de retinol dos dois grupos  $[(\alpha_1 - \alpha_2)^2]$  igual a  $0,25 \mu\text{Mol/L}$ , o tamanho amostral mínimo, calculado para cada grupo de tratamento, foi de 63 pares mãe-filho. No sentido de corrigir eventuais perdas foram trabalhadas 276 crianças.

### 4.3 População e local do estudo

Participaram do estudo os recém-nascidos de mulheres domiciliadas no município do Recife e Região Metropolitana, admitidas na maternidade do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira - IMIP e na maternidade Prof. Bandeira Filho no período de agosto de 2007 a junho de 2009. Ambas as maternidades estão localizadas na cidade do Recife, atendem a mulheres, predominantemente, de baixa renda, oriundas do Sistema Único de Saúde (SUS) e realizam cerca de 400 partos por mês.

O IMIP é uma instituição filantrópica que atua na assistência médico-social, ensino, pesquisa e extensão comunitária e está credenciada como hospital de ensino pelos Ministérios da Educação e da Saúde e como Centro de Referência Nacional e Estadual na área Materno-Infantil para o Ministério da Saúde e o Sistema Único de Saúde (SUS) - PE, respectivamente. Esta instituição é considerada Hospital Amigo da Criança pelo Ministério da Saúde, pioneiro no Brasil, e tem como característica o incentivo ao aleitamento materno além de atender uma maior demanda de gestantes de alto risco da cidade do Recife, cidades circunvizinhas e interior do Estado.

A maternidade Prof. Bandeira Filho fica a 3,5 km do IMIP, também é considerada pelo Ministério da Saúde Hospital Amigo da Criança e está vinculada a Secretaria de Saúde da Prefeitura do Recife, atendendo apenas gestantes de baixo risco obstétrico.

#### **4.4 Seleção da amostra**

Para compor a amostra de conveniência, foram selecionados 200 recém-nascidos no alojamento conjunto, filhos das mulheres que concordaram em participar do estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A) e que atenderam aos seguintes critérios:

##### **Inclusão**

1. Ser filho de gestante de baixo risco obstétrico;
2. Residir na cidade do Recife ou Região Metropolitana.

##### **Exclusão**

1. Ser filho de mulheres com transtorno mental grave, síndromes hipertensivas, diabetes mellitus e HIV;
2. Recém-nascidos com hipóxia perinatal grave (apgar < 4 no 1º e 5º minutos de vida);
3. Recém-nascidos com malformações ou outras doenças graves que favorecem o surgimento de doenças infecciosas ou interferem no seu crescimento e/ou dificultam as aferições do peso e comprimento ou impossibilitam o aleitamento materno (síndromes de má-absorção, síndromes metabólicas, cardiopatia, fenda de palato).

## 4.5 Coleta de dados

Inicialmente, todos os profissionais envolvidos na pesquisa (auxiliares de pesquisa, técnicos de laboratório, auxiliares de enfermagem, motorista, enfermeiras e acadêmicos de Nutrição e Enfermagem) foram informados sobre os objetivos desta e seus aspectos éticos. Em seguida, realizou-se treinamento com os auxiliares de pesquisa responsáveis pela aplicação dos formulários. Todas as instruções foram descritas em um manual elaborado pelas pesquisadoras para auxiliar a equipe em caso de dúvida, mantendo assim a padronização na coleta das informações (Apêndice B).

Após treinamento da equipe, foi realizado um estudo piloto com duração de 4 meses para avaliar o fluxograma da pesquisa, identificar os pontos críticos e treinar a equipe na aplicação dos formulários. Posteriormente, o fluxograma e os formulários foram reajustados e após novo treinamento da equipe da pesquisa iniciou-se a coleta de dados. Todos os profissionais envolvidos na pesquisa receberam crachás e camisas para melhor identificação dos mesmos pelas puérperas. Cada setor das maternidades participantes na pesquisa foi informado previamente sobre os objetivos da mesma e a data de início da coleta de dados.

### 4.5.1 Procedimentos para seleção da amostra

As gestantes foram selecionadas na triagem das referidas maternidades através de um *check-list* que abordava questões sobre local de domicílio, tempo de gestação e co-morbidades gestacionais. Após esta etapa, elas foram esclarecidas sobre os objetivos do estudo, assinaram TCLE e responderam um questionário com informações socioeconômicas, demográficas e obstétricas. Além disso, foram aferidas as medidas antropométricas e coletada amostra de sangue para análise laboratorial (Apêndice C), que posteriormente foram encaminhadas a sala de parto.

Após o parto, foram coletados 5 ml de sangue do cordão umbilical do recém-nascido e as medidas antropométricas, aferidas pelo neonatologista, foram anotadas em formulário específico (Apêndice D). No dia seguinte, as pesquisadoras checavam os critérios de elegibilidade no binômio mãe/filho e aqueles selecionados para o estudo tiveram seus prontuários carimbados como participantes da pesquisa.

Antes da alta hospitalar, todas as puérperas receberam uma cápsula com 200.000 UI de vitamina A seguindo o Programa de Suplementação de Vitamina A do Brasil (Farmanguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e orientações sobre a importância do

aleitamento materno exclusivo. Em seguida, foi entregue à puérpera um cartão de identificação da pesquisa, contendo o número de telefone para contato e o agendamento do retorno a puericultura.

No início da pesquisa, algumas reformas estruturais realizadas no centro obstétrico e no setor de pré-parto do IMIP levaram à suspensão temporária dos partos de baixo risco nessa instituição. Diante disso, a captação das gestantes e seus conceptos foi estendida à maternidade Prof. Bandeira Filho. Essa unidade foi escolhida devido à proximidade do IMIP e pelo vínculo de uma das pesquisadoras com a instituição. Após assinatura da carta de anuência (Anexo C), foi iniciada a coleta de dados seguindo o mesmo protocolo adotado na maternidade do IMIP. Entretanto, devido a algumas dificuldades operacionais, não foi possível coletar o sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos desta maternidade.

#### **4.5.2 Randomização e dose de suplementação**

Após 8-10 dias do parto, 276 pares de mãe/filho elegíveis foram randomizados por uma pesquisadora da equipe, de forma individual em dois grupos de suplementação. Os pares de mãe-filho recebiam uma numeração para identificação na pesquisa de forma sequenciada de acordo com a ordem de entrada na pesquisa. Portanto, o primeiro par mãe-filho selecionado na pesquisa recebeu o número 1, o segundo par o número 2 e assim sucessivamente. Os pares já identificados, de acordo com o número de ordem da pesquisa, foram randomizados nos grupos de suplementação mediante uma tabela de números randômicos, elaborados pelo programa EPI INFO versão 6.04 (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), antes da consulta clínica do recém-nascido.

As cápsulas de vitamina A e placebo foram embaladas em recipientes e estes rotulados de forma codificada. Essa codificação foi realizada por um profissional do IMIP não participante da equipe da pesquisa, guardada em envelope lacrado durante todo o estudo e os membros da pesquisa só tiveram ciência da alocação dos grupos de suplementação após a conclusão da análise dos dados.

No grupo de suplementação de 400.000 UI, as mães receberam a segunda cápsula com 200.000 UI de vitamina A; no grupo de 200.000 UI, elas receberam a segunda cápsula com placebo.

As cápsulas de vitamina A e placebo administradas às mães na randomização foram fornecidas pela *Relthy Laboratórios* (Indaiatuba, SP, Brasil) apresentando mesmas características quanto ao aspecto (gelatinosa mole), formato, coloração (opaca para

fotoproteção) e sabor. As cápsulas de vitamina A eram compostas de palmitato de retinol adicionado de 40 mg de vitamina E e as de placebo continham óleo de soja adicionado de 40 mg de vitamina E.

As puérperas selecionadas para a pesquisa eram contatadas por telefone para confirmar a data de retorno da criança ao serviço de puericultura e durante três dias consecutivos, após administração da segunda cápsula, foram monitoradas sobre possíveis efeitos adversos da suplementação com megadose de vitamina A. Nenhuma referência que pudesse ser relacionada a esses efeitos colaterais (febre, náuseas e vômitos) foi mencionada às mães para evitar que fossem sugestionadas sobre algumas das manifestações clínicas pesquisadas. Na suspeita de algum desses sinais clínicos, um auxiliar da pesquisa se deslocava até o domicílio para confirmar ou não a suspeita clínica.

#### **4.5.3 Procedimentos e acompanhamento dos participantes**

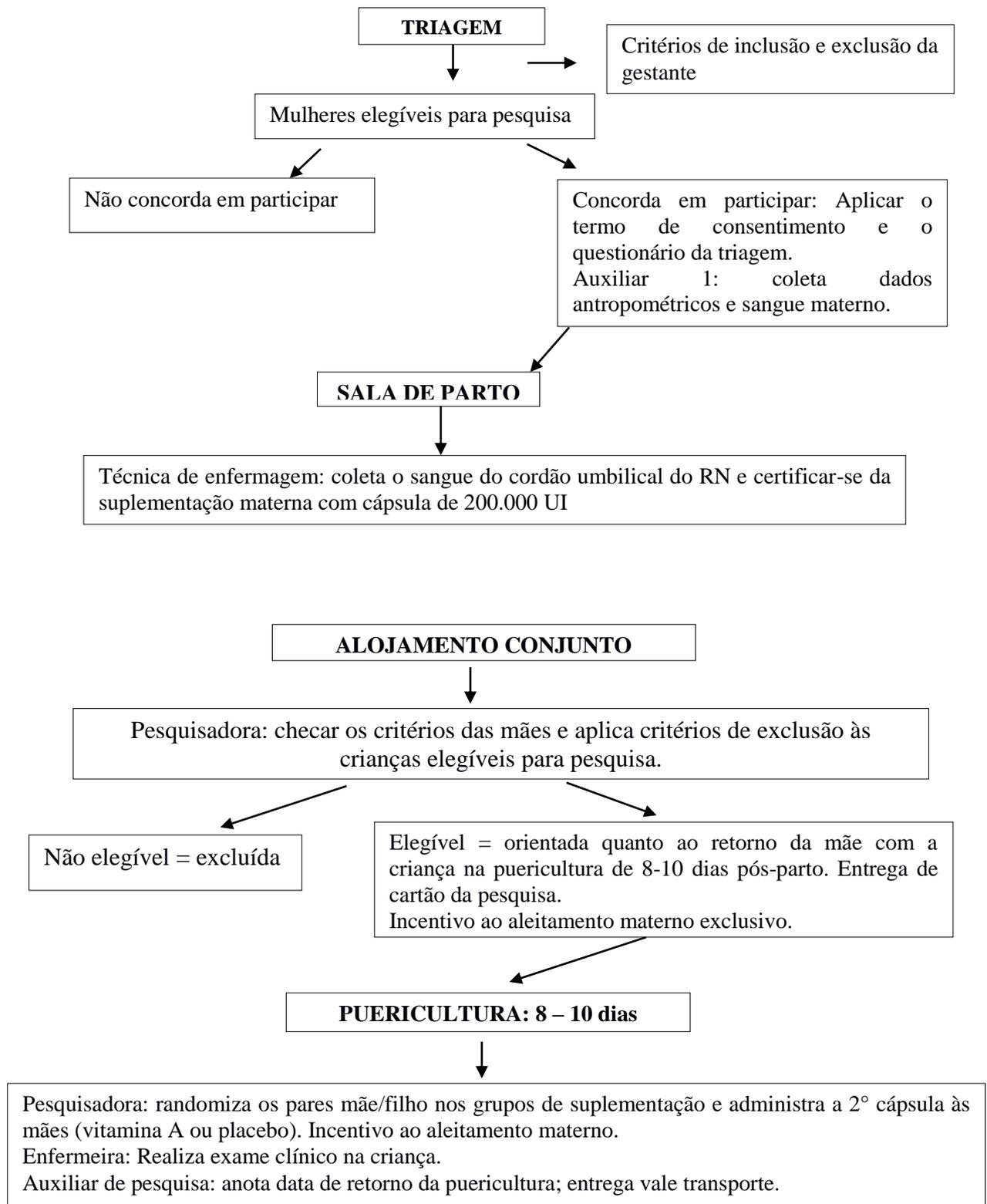
Após a alocação nos grupos, as crianças foram acompanhadas a cada consulta na puericultura do IMIP, mensalmente, até o 6º mês de vida para avaliação clínica. Nas consultas do 2º, 4º e 6º mês pós-parto, além das medidas antropométricas, foram coletados 3 ml de sangue de cada criança para análise do retinol sérico e acrescidos 2 ml para hemograma (Apêndice F).

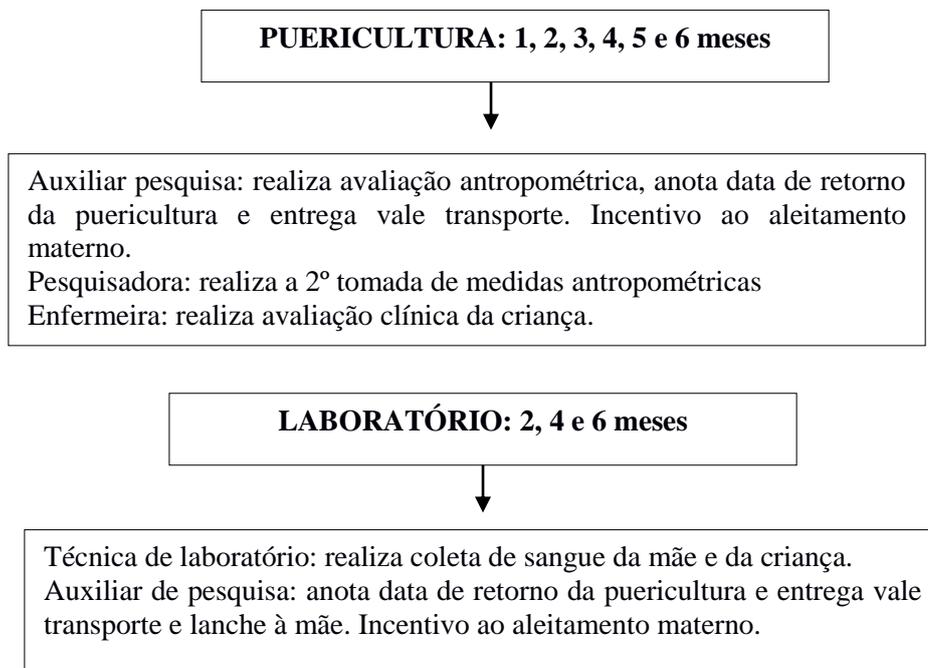
A cada novo contato, as mães foram incentivadas a manter o aleitamento materno exclusivo até o sexto mês da criança. Nos meses em que se realizou a coleta de sangue (2º, 4º e 6º mês pós-parto), foi realizado contato por telefone, no dia anterior, informando as orientações do aleitamento materno e o jejum. Todas as mulheres receberam lanche após coleta de sangue e vale-transporte para retornarem nas consultas subsequentes. A principal dificuldade evidenciada foi a coleta de sangue da criança, muitas vezes recusada por “pena de furar” a criança em três momentos. Foram coletados os motivos de todas as recusas ao longo da pesquisa (Apêndice H).

Após coleta de sangue, o material foi encaminhado ao laboratório de análises clínicas do IMIP, para separação, centrifugação e análises. Para análise do retinol sérico, a técnica de laboratório, separou o soro, acondicionou-os em tubos *ependorf* e armazenou no freezer todas amostras, devidamente identificadas. As pesquisadoras, mensalmente, transportavam essas amostras, em caixas de isopor com gelo, para o laboratório do CIMICRON/UFPB, onde foram realizadas as análises. Todas as pesquisadoras receberam treinamento, quanto à análise

do retinol, por técnicos do CIMICRON/UFPB, bem como treinamento para análise do retinol no leite materno, no departamento de bioquímica na Universidade Federal do Rio Grande do Norte- UFRN.

O fluxograma da seleção, randomização e acompanhamento das participantes são apresentados nas Figuras 1 e 2.



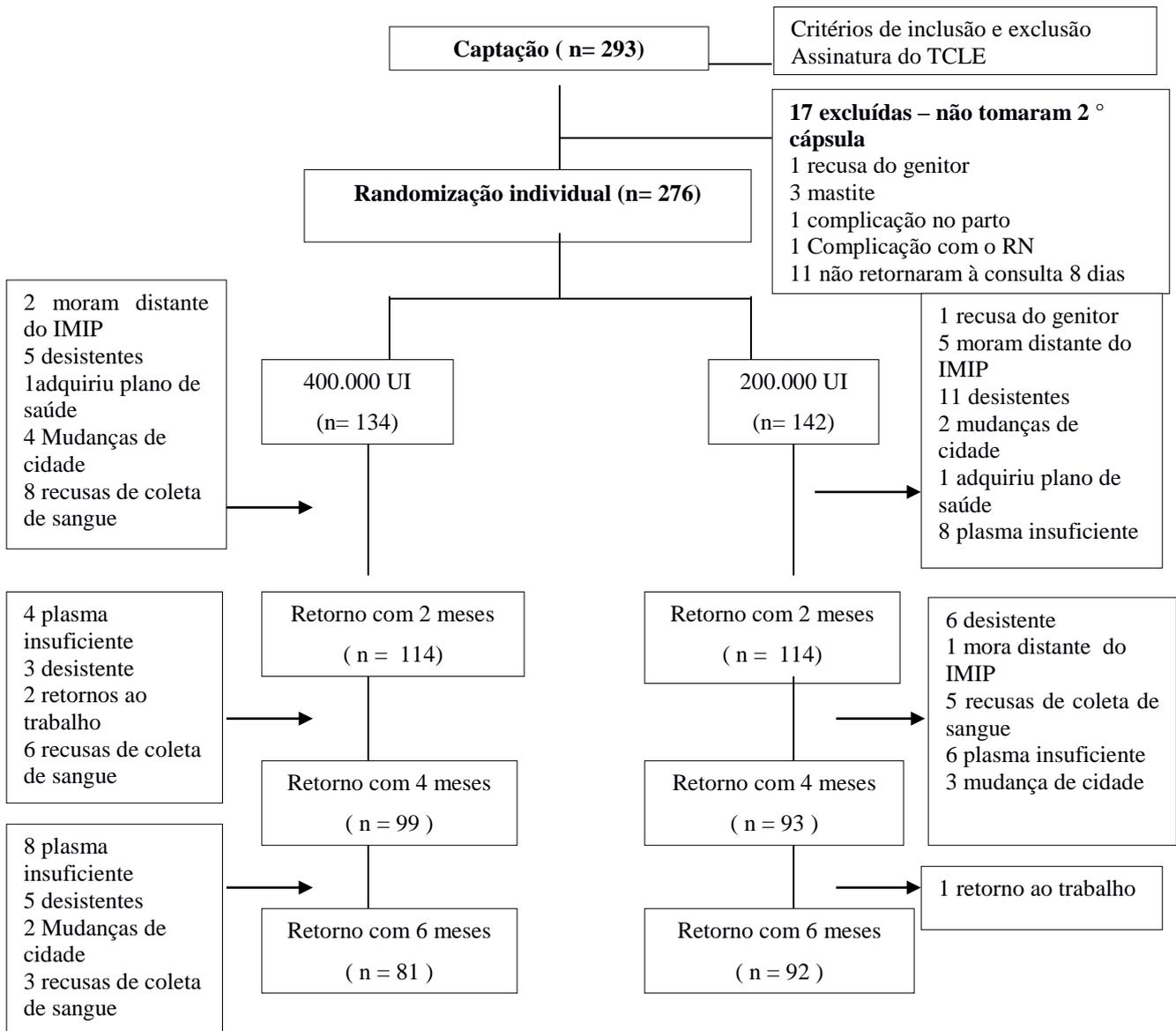


**Figura 1 – Fluxograma da Pesquisa**

No último mês de acompanhamento da criança, as mães responderam a um questionário de frequência alimentar (QFA) semiquantitativo (Apêndice G), com o objetivo de comparar o consumo de vitamina A das puérperas nos dois grupos de suplementação.

### **Perdas de seguimento**

As mulheres que não foram localizadas, mesmo após três tentativas, foram consideradas como perda. Na recusa do binômio mãe/filho em continuar na pesquisa o motivo desta foi anotado em formulário específico (Apêndice J). Ao longo do estudo, ocorreram 103 (37,3%) perdas, sendo 2 (1,9%) por aquisição de plano de saúde para os RNs, 3 (2,9%) devido o retorno das mães ao trabalho, 19 (18,5%) por residirem muito longe do IMIP/mudança de endereço, 23 (22,3%) por recusa de coleta de sangue na criança, 26 (25,2%) por material biológico insuficiente e 30 (29,2%) desistências incluindo neste motivo a perda completa de contato com a mãe (Figura 2).



**Figura 2** – Fluxograma de distribuição da amostra das crianças/perdas de seguimento dos participantes da pesquisa. Recife, 2007/09.

Apesar das perdas, os grupos de suplementação apresentaram-se homogêneos ( $p=0,08$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Distribuição de perdas das crianças segundo o grupo de suplementação. Recife-PE, 2007/09.

Grupo de suplementação	Estudo		Perdas		Total		p*
	n	%	N	%	N	%	
400.000 UI vitamina A	115	85,8	19	14,2	134	100,0	0,08
200.000 UI vitamina A	109	76,8	33	23,2	142	100,0	

\*Teste do  $X^2$   $p=0,08$

As características socioeconômicas, demográficas e antropométricas do binômio mãe/filho não diferiram entre os grupos de crianças que concluíram o estudo e o grupo de perdas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Comparação das características das crianças seguidas no estudo com o grupo das perdas de seguimento. Recife-PE, 2007/09.

Características	n	Estudo	n	Perdas	p <sup>a</sup>
		Media $\pm$ DP		Média $\pm$ DP	
<i>Maternas</i>					
Idade materna (anos)	224	24,6 $\pm$ 6,2	52	23,6 $\pm$ 5,5	0,22
Escolaridade materna (anos)	224	8,8 $\pm$ 2,7	52	8,4 $\pm$ 2,4	0,27
Renda per capita (R\$)	222	145,3 $\pm$ 97,2	49	133,8 $\pm$ 69,0	0,37
IMC materno (kg/m <sup>2</sup> )	176	28,5 $\pm$ 4,4	29	27,2 $\pm$ 4,6	0,08
<i>Crianças</i>					
Peso nascer (g)	224	3313,0 $\pm$ 390,0	52	3283,0 $\pm$ 415,4	0,57
Sexo masculino [n (%)]	224	107 (47,8)	52	26 (50,0)	0,38
Saneamento adequado [n (%)]	221	171 (77,5)	30	25 (83,3)	0,32

<sup>a</sup> Teste "t" de student para dados não pareados

#### 4.5.4 Padronização da coleta de dados

##### Indicadores laboratoriais

Para análise dos indicadores laboratoriais, foram colhidos 5 ml de sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos e, na sala de parto, 10 ml da mãe por venipuntura braquial, na triagem da maternidade por técnico de enfermagem da pesquisa, antes da suplementação materna com a vitamina A que correspondeu à linha de base. Posteriormente a cada retorno das consultas de 2, 4 e 6 meses, foram coletados sangue da mãe e criança. O sangue foi separado em tubos previamente identificados para determinar os níveis de retinol sérico e hemograma do binômio mãe-filho.

##### **Retinol Sérico**

As alíquotas de sangue para determinação do retinol foram colocadas em tubos previamente identificados e protegidos da luz. Após uma hora de decantação, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm (rotação por minuto), durante 10 minutos, separado o soro, acondicionado em tubos *ependorf* e armazenado no *freezer* à temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Mensalmente, as amostras eram transportadas para o laboratório do Centro de Investigações de Micronutrientes (CIMICRON /UFPB) em caixas de isopor com gelo, para análise das concentrações do retinol sérico pela cromatografia líquida de alta resolução (HPLC, modelo 305, Gilson, França), segundo o método estabelecido por Furr, Tanumihardjo e Olson (1992).

Após o descongelamento, foram pipetados  $100\mu\text{L}$  de soro de cada amostra e colocados em tubos cônicos de vidro, identificados, e adicionados  $100\mu\text{L}$  de etanol absoluto ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), para promover a precipitação das proteínas, juntamente com  $200\mu\text{L}$  de hexano ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ), para extração do retinol. Em seguida, as amostras foram agitadas por 30 segundos, no agitador de tubos, em velocidade contínua, e centrifugados à velocidade de 3000 rpm, durante 5 minutos. Posteriormente, foram extraídos  $100\mu\text{L}$  do sobrenadante, colocados em tubos de vidro pequeno e evaporados com nitrogênio, por aproximadamente 1 minuto. O resíduo da amostra foi redissolvido com  $50\mu\text{L}$  de metanol e deste, retirados  $20\mu\text{L}$  para leitura.

Para classificação dos níveis de retinol sérico foram adotados os pontos de corte propostos pela OMS (1994): Deficientes  $< 0,35\ \mu\text{mol/L}$  ( $< 10\ \mu\text{g/dL}$ );

Baixos de  $0,35\text{ - }0,70\ \mu\text{mol/L}$  ( $10\text{ - }20\ \mu\text{g/dL}$ );

Marginais de 0,70 |- 1,05  $\mu\text{mol/L}$  (20 |- 30  $\mu\text{g/dL}$ ).

## **Hemoglobina**

Para análise da hemoglobina, a amostra de sangue foi colocada em tubo de ensaio heparinizado a vácuo e encaminhado ao laboratório do IMIP para determinação pelo contador eletrônico de células (Sismex SF 3000 Automated Hematology Analyser, GMI, Inc. Ramsey, MN, USA).

A anemia neonatal foi definida quando a criança apresentava níveis de hemoglobina < 11,0 g/dL e para mãe foi definida como anêmicas as que apresentaram hemoglobina < 12g/dL (WHO, 1989).

## **Avaliação antropométrica**

A avaliação antropométrica da criança foi realizada a partir das medidas: peso e comprimento, aferidas no nascimento pelo neonatologista e a cada consulta mensal pelos auxiliares de pesquisa.

O peso ao nascer foi adotado como indicador antropométrico, considerando-se baixo peso <2500g, peso insuficiente de 2500g à 2999g e  $\geq$  3000g como peso adequado (PUFFER, SERRANO, 1987).

Para as adequações dos índices peso/idade (P/I), altura/idade (A/I), peso/altura (P/A) e Índice de Massa Corporal para idade (IMC/I), utilizou-se como referência o padrão do OMS (2006), definindo-se baixo peso para P/I < - 2 escores Z, déficit estatural para A/I < - 2 escores Z e excesso de peso quando P/A e IMC/I encontrava-se > + 2 escores Z.

## **Dados socioeconômicos e demográficos**

Quanto às variáveis de características socioeconômicas, foram avaliadas a renda familiar *per capita* e escolaridade materna.

A renda *per capita* foi expressa em salários mínimos (SM) e categorizada em três grupos: < ¼ SM, de ¼ a ½ SM e  $\geq$  ½ SM (1 SM = R\$ 413,00).

Sobre a escolaridade materna, foi considerado o último ano concluído pela mãe e classificada < 8 anos, 8 à 11 anos e  $\geq$  11 anos de estudo, sendo considerada baixa escolaridade mulheres com menos de 8 anos de estudo.

A característica biológica idade materna foi expressa em anos e categorizada em < 20 anos; 20 a 35 anos e  $\geq$  35 anos.

Quanto à situação do domicílio, foi avaliado o tipo de abastecimento de água da residência, se havia canalização interna ou externa, o destino do lixo e do esgoto. As residências que apresentavam abastecimento de água ligado à rede geral com canalização interna, esgotamento sanitário ligado à rede pública e coleta regular de lixo foram consideradas com saneamento básico adequado (RAMALHO et al., 2006).

### **Consumo alimentar**

A ingestão dos alimentos fontes de vitamina A da puérpera foi avaliada pelo questionário de frequência alimentar semiquantitativo no 6º mês pós-parto, para comparação dos grupos.

Foi observada a frequência por dia/semana/mês e a quantidade ingerida numa estimativa de consumo cujas porções foram referidas mediante o uso de medidas caseiras. Quanto às dúvidas no relato das preparações/porções dos alimentos, utilizou-se um álbum de fotografias com o tamanho das porções dos alimentos, identificadas como pequena, média e grande.

O consumo alimentar foi analisado pelo Programa DIETSYS (*National Cancer Institute*, Bethesda, Estados Unidos).<sup>1</sup>

### **Definição e operacionalização das variáveis**

#### **Variável independente**

Intervenção materna com 400.000 UI e 200.000 UI da vitamina A

#### **Quadro 1 - Variáveis dependentes**

<b>VARIÁVEL</b>	<b>REFERÊNCIA/DESCRIÇÃO</b>	<b>TIPO</b>	<b>CATEGORIAS</b>
Hemoglobina da criança	WHO, 1989	Variável numérica contínua	< 11 g/dL

<sup>1</sup> Disponível em: <<http://appliedresearch.cancer.gov/DietSys/software.html>>. Acesso em: 19 maio 2011.

Hemoglobina materna	WHO, 1989	Variável numérica contínua	< 11 g/dL
Retinol sérico materno	WHO, 1994	Variável numérica contínua	< 1,05 µmol/L
Renda <i>per capita</i>	Renda calculada a partir da renda familiar dividida pelo número de moradores do domicílio	Variável numérica contínua	Categorizada em quartis de salário mínimo.
Idade materna	Idade em anos completos no momento da entrevista	Variável numérica discreta	Categorizada em anos completos: <20 anos, 20 -35 anos e ≥35 anos.
Escolaridade materna	Número de anos de estudo considerando o último ano cursado com aprovação	Variável numérica discreta	Categorizada em anos de estudo completos: <8 anos, 8 -11anos e ≥ 11 anos.
Saneamento básico	Tipo de abastecimento de água, destino do lixo e destino do esgoto	Variável categórica	Adequado e inadequado
Idade da criança	Idade em meses de vida	Variável numérica discreta	2 meses 4 meses 6 meses
Sexo da criança	Gênero	Variável categórica dicotômica	Masculino e feminino
Peso ao nascer	Peso em gramas	Variável numérica contínua	Categorizada em: Baixo peso; Peso insuficiente; Peso adequado
Apagar	Valor do Apagar observado no 5º minuto com numeração de 7 a 10	Variável numérica discreta	<7 ≥7
Comprimento ao nascer	Comprimento em centímetros	Variável numérica contínua	Escore Z: -2 a +2
Peso/Altura	WHO, 2006	Variável numérica contínua	Magreza < - 2 Escore Z excesso de peso > + 2 Escore Z
Altura/idade	WHO, 2006	Variável numérica contínua	Déficit estatura < - 2 Escore Z
Peso/idade	WHO, 2006	Variável numérica contínua	Baixo peso < - 2 Escore Z
IMC/idade	WHO, 2006	Variável numérica contínua	Magreza < - 2 Escore Z excesso de peso > + 2 Escore Z
Tipo de aleitamento materno	Tipo de aleitamento oferecido no momento da consulta.	Variável categórica policotômica.	Aleitamento materno exclusivo. Aleitamento materno
Consumo alimentar materno	Questionário de frequência alimentar semi-quantitativo	Variável categórica dicotômica.	Baixa ingesta de vitamina A Ingesta adequada de vitamina A

#### **4.6 Análise dos dados**

A construção do banco de dados foi realizada no programa EPI INFO versão 6.04 (WHO/CDC, Atlanta, GE) com dupla entrada e verificados com o módulo *validate*. Para análise estatística foi utilizado o programa *Statistical Package for Social Science - SPSS for Windows*, versão 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). O consumo alimentar de vitamina A materno apresentou distribuição não normal, sendo apresentado sob a forma de mediana e percentis. Na descrição das proporções, a distribuição binomial foi aproximada à distribuição normal pelo intervalo de confiança de 95%. A comparação entre médias foi realizada, pelo teste “t” de *Student* (duas médias) para dados não pareados, e pela Análise de Variância (mais de duas médias).

As variáveis que apresentaram distribuição normal após aplicação do teste KOLMOGOROV- SMIRNOV foram descritas na forma de média e desvio padrão. Apenas a variável consumo alimentar apresentou distribuição não normal e foi descrita na forma de mediana e intervalo interquartil. Para a comparação das médias entre os grupos, foi utilizado o teste t de *Student* para dados não pareados e na comparação entre as proporções os testes do Qui-quadrado de *Pearson* e exato de *Fisher*. Ademais, foi utilizada a correlação de *Pearson* para verificar a associação do retinol sérico e hemoglobina das crianças aos seis meses.

A análise da variação do retinol em função do tempo e das dosagens foi ajustada pelos modelos de regressão linear usando a técnica GEE (*Generalized Estimation Equations*), que ajusta as estimativas dos parâmetros e de seus erros padrão, levando em consideração a possível correlação das medidas repetidas. A fim de evitar a ocorrência de viés na estimativa da variação temporal do retinol após a administração dos tratamentos, foi introduzida nos modelos de regressão uma variável indicadora das medidas basais. Para rejeição da hipótese de nulidade, foi adotado o nível de significância de 5%.

#### **4.7 Viabilidade financeira**

Este trabalho foi financiado pelos Ministérios da Saúde [convênio n° 4807/2005, processo n° 25000.202.039/2005-11] e da Ciência e Tecnologia [convênio n° 01.0265.00/2005-MCT, processo n° 01200.006980/2005-83] do Brasil. As maternidades do IMIP e Bandeira Filho disponibilizaram a estrutura física e a Relthy Laboratório forneceu as cápsulas administradas na randomização (vitamina A e placebo).

#### **4.8 Considerações éticas**

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), sob o n° 720/2006, em 27 de janeiro de 2006 (Anexo F), de acordo com as normas para pesquisas em seres humanos e registrado no [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) sob o número NCT00742937.

As crianças foram selecionadas nas referidas maternidades, após a concordância das respectivas mães em participarem da pesquisa e assinarem o TCLE. As que apresentaram anemia ou qualquer outra morbidade, durante a pesquisa, foram encaminhadas à médica assistente da pesquisa para avaliação clínica e recebiam orientação quanto ao uso de sulfato ferroso e/ou medicações específicas para os sintomas apresentados. Não foram estabelecidas regras formais para a interrupção do ensaio clínico.

## 5 RESULTADOS

Os resultados deste estudo estão apresentados sob a forma de artigos científicos originais, conforme regulamentação do Colegiado de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

### 5.1 Artigo 1: Artigo original submetido ao Jornal de Pediatria

#### **Concentrações de retinol sérico e de hemoglobina em crianças aos seis meses de idade atendidas em um serviço de puericultura da cidade do Recife.**

**Título abreviado:** Concentrações de retinol sérico e de hemoglobina em crianças com seis meses de idade

## INTRODUÇÃO

A deficiência de micronutrientes como vitamina A e ferro, entre outros, têm um grande impacto sobre a saúde pública em muitos países em desenvolvimento, pois esses nutrientes participam ativamente na manutenção de várias funções orgânicas vitais, como crescimento, reprodução, função antioxidante e função imune. Sendo assim, as deficiências desses nutrientes têm como conseqüências vários agravos à saúde da população<sup>(1, 2)</sup>.

Em diversos processos metabólicos, como a diferenciação celular, o ciclo visual, o crescimento, a reprodução, sistema antioxidante e imunológico a vitamina A tem um papel essencial, além de apresentar especial importância durante os períodos de proliferação e rápida diferenciação celular, como na gestação, período neonatal e infância<sup>(3)</sup>.

A partir do último trimestre de gestação é iniciada a formação de reservas fetais de vitamina A e, após o nascimento, são necessários vários meses de ingestão adequada para construir suas reservas adequadas deste micronutriente. A transferência de vitamina A da mãe para o filho, em geral, é 60 vezes maior durante os seis meses de lactação, quando comparada à transferência ocorrida durante o período gestacional. A concentração de vitamina A no leite materno, normalmente, é suficiente para suprir as necessidades diárias, considerando a amamentação exclusiva<sup>(4, 5)</sup>.

Sabe-se que a concentração de Vitamina A é influenciada pelo estado nutricional de Vitamina A materno, com isto, caso o leite seja proveniente de nutrizes com dieta pobre em vitamina A, desnutridas ou, caso a criança seja desmamada precocemente, as reservas do recém-nascido serão baixas e aumentarão a probabilidade de desenvolvimento de deficiência de vitamina A <sup>(3,6)</sup>.

Dentre a deficiência de micronutrientes no seguimento materno infantil pode ser citada como de grande impacto, sobretudo em crianças, é a deficiência de ferro <sup>(7)</sup>. Esta pode ser definida como um aporte insuficiente de ferro às células do organismo após terem sido esgotadas as reservas e apresenta-se como a mais prevalente deficiência nutricional, atingindo todos os países do mundo, em variados graus, com maior ênfase em países mais pobres. No Brasil, dados da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS) publicados em 2009, avaliando a prevalência de anemia em 3.499 crianças menores de 5 anos de idade, apontaram 20,9% de crianças com hemoglobina <11g/dL, sendo que 8,7% apresentavam hemoglobina <9,5g/dL. A região Nordeste foi a que apresentou maior prevalência (25,5%) <sup>(7,8)</sup>.

A anemia ferropriva é uma manifestação tardia da deficiência de ferro que pode acometer até cerca de 50% dos indivíduos portadores desta deficiência.

Alterações no desenvolvimento físico, cognitivo, linguagem, psíquico, comportamental, imunidade, assim como, menor escore mental e motor em crianças com anemia entre três e quinze meses de idade, são conseqüências importantes da anemia neste seguimento <sup>(9)</sup>.

Os estudos realizados, principalmente em países em desenvolvimento, mostram que as deficiências de micronutrientes não acontecem isoladamente, sobretudo as carências de vitamina A e ferro <sup>(10, 11)</sup>.

Além do mais, foi demonstrado por diversos autores que, tanto as mulheres, no período de lactância, como as crianças com hipovitaminose A tem maior risco desenvolver anemia, quando comparados com aqueles grupos que não apresentam deficiência deste micronutriente <sup>(9, 1)</sup>.

Diante do exposto, esse estudo visa avaliar as concentrações de retinol sérico e de hemoglobina e verificar a associação entre estes micronutrientes em crianças com seis meses de idade, atendidas em um serviço de puericultura da cidade do Recife.

## MÉTODO

### Amostra/desenho do estudo

Foi desenvolvido um estudo de corte transversal em uma sub-amostra de crianças, pertencentes a uma coorte do projeto Impacto da suplementação materna com a dupla megadose de vitamina A impacto no pós parto imediato, desenvolvido pelos Departamentos de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE e o Instituto de Medicina Integral Prof<sup>o</sup> Fernando Figueira-IMIP. O recrutamento das crianças do projeto ocorreu quando as mães davam entrada na Instituição (IMIP) para o parto. O período de captação da amostra aconteceu entre maio de 2007 a agosto de 2009. Para este estudo foram selecionadas 221 crianças de ambos os sexos com seis meses de idade e que possuíam resultados de hemoglobina e retinol sérico.

### Coleta de dados

#### Dados bioquímicos

A determinação da hemoglobinemia e da retinolemia foi realizada numa amostra de 5 ml de sangue obtidas por venopunção nas crianças distribuídas em dois tubos separadamente. A análise das concentrações de retinol sérico foi realizada numa alíquota de 3 ml de sangue e colocada em tubo previamente identificado envolto em papel alumínio para proteção da luz. Após a completa coagulação, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm (rotação por minuto) em rotor tamanho 18, perfazendo um rcf (força centrífuga relativa) de 1884g durante 10 minutos para a separação total do soro, este sendo transferido para tubos *eppendorf*, acondicionadas em freezer à temperatura de - 20°C, e posteriormente transportadas para o Centro de Investigação em Micronutrientes (CIMICRON) da Universidade Federal da Paraíba, mantendo-se a cadeia de frio. O método utilizado para determinação das concentrações de retinol sérico foi o cromatográfico (cromatografia líquida de alta resolução HPLC), segundo a técnica estabelecida por Furr et AL <sup>(12)</sup>. A Deficiência de vitamina A (DVA) foi definida como níveis séricos de retinol inferiores a 20µmol/L (OMS) <sup>(13)</sup>. O restante da amostra de sangue (2mL) foi colocado em tubo de ensaio heparinizado a vácuo para análise das concentrações de hemoglobina pelo contador eletrônico de células (Sismex SF 3000 Automated Hematology Analyser, GMI, Inc. Ramsey, MN, USA) realizado no

laboratório da Instituição sede do estudo. Como ponte de corte para anemia nas crianças do estudo foi considerada a Hb < 11 g/dL. (OMS, 1989) <sup>(14)</sup>.

### Dados socioeconômicos

A renda familiar per capita foi expressa em salários mínimos (SM) e categorizada em três grupos: < ¼, ¼ |- ½, ≥ ½ (1SM=R\$413,00). A escolaridade materna foi classificada em anos de estudo e categorizado em três grupos: < 8 anos, 8|- 11 anos, ≥11 anos.

As condições de saneamento foram consideradas adequadas, quando o domicílio apresentava abastecimento de água ligada à rede pública com canalização interna, esgoto sanitário ligado à rede pública e coleta regular de lixo; e inadequadas quando um dos serviços de saneamento não estava disponível.

### Antropometria

As medidas antropométricas (peso e comprimento) tiveram sua aferição em duplicata, por auxiliares de pesquisa, devidamente treinados sob a supervisão da equipe de pesquisadores. O peso foi aferido em balanças microeletrônicas, marca Fillizola, modelo E-150/3P e o comprimento foi medido com antropômetro de madeira. Aceitou-se um erro de 100 g e 0,1 cm, respectivamente, para as medições do peso e do comprimento <sup>(15,16)</sup>. A medida final representou a média resultante entre as duas medições. Os dados antropométricos foram calculados e avaliados pelo software Anthro versão 2 sendo utilizados os índices altura para idade (A/I) e massa corporal para idade (IMC/I).

### Tipo de alimentação da criança

As informações sobre o tipo de alimentação da criança foram obtidas no momento da entrevista com as mães ou responsáveis e categorizadas em três grupos: aleitamento materno exclusivo: crianças que se alimentavam exclusivamente de leite materno, sendo permitido apenas o uso de medicamento, suplementos minerais ou vitamínicos; aleitamento materno: crianças que consumiam leite materno, leite de vaca e outros alimentos; aleitamento artificial: crianças que consumiam leite de vaca e outros alimentos e não mais recebiam leite materno.

### **Análise dos dados**

A construção do banco de dados foi realizada no programa Epi-Info versão 6.04 (WHO/CDC, Atlanta, GE) e para análise estatística foi utilizado o programa Statistical Package for Social Science - SPSS for Windows, versão 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Foi testada normalidade na distribuição das concentrações de retinol sérico e hemoglobina pela aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnoff as quais foram descritas a partir do ponto de corte para cada uma destas variáveis. A comparação entre médias foi realizada, pelo teste “t” de *Student* (duas médias) para dados não pareados, e pela Análise de Variância (mais de duas médias). A correlação de Pearson foi aplicada para verificar a associação entre as concentrações de retinol sérico e hemoglobina da criança, e entre os níveis de retinol e hemoglobina da criança em relação ao materno. O nível de significância estabelecido para os testes estatísticos foi  $p < 0,05$ .

### **Aspectos Éticos**

O protocolo do estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, sob o nº 720/2006 em 27 de janeiro de 2006, de acordo com as normas para pesquisas em seres humanos. As crianças com seis de idade que compareciam a consulta de puericultura na Instituição foram alocadas para o estudo mediante abordagem da mãe ou do responsável sendo solicitada a participação da criança no estudo com posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os casos de hemoglobina com valor inferior a 11g/dL (criança) e 12g/dL(mãe) foi prescrito tratamento para anemia. Após a consulta e coleta de sangue a criança era encaminhada ao serviço de vacinação para receber a cápsula de vitamina A (100.000 UI) seguindo o protocolo do Programa de Suplementação de Vitamina A do Brasil.

## **RESULTADOS**

Das famílias das crianças estudadas observou-se que 82,0% sobreviviam com até meio salário mínimo, e que destas famílias 77,4% (IC71,0 – 82,8) possuíam saneamento adequado no domicílio. Em relação às características maternas, a maior parte, 68,9% (IC62,1 – 75,0) encontrava-se com idade entre 20 a 35 anos e cerca de um terço da do total das mães tinha escolaridade abaixo de oito anos de estudo, 33,5% (IC 27,2 – 40,4).

Quanto ao estado nutricional das crianças (indicadores P/I e A/I), a grande parte da amostra, 95,5% e 93,5% respectivamente, apresentou-se na faixa entre -2 a 2 escores Z, compondo a amostra apenas 0,5% de crianças com peso para idade e 6,5% de crianças com estatura abaixo dos padrões de normalidade. Em relação ao IMC cerca de 79% apresentaram-se entre -2 a 2 escores Z.

No que se refere à alimentação 76,6% das crianças recebiam aleitamento materno e destas, 20,1% em regime exclusivo.

Quanto à distribuição das concentrações de retinol sérico, 4,6% das crianças eram portadoras de hipovitaminose A e 72,9% da amostra encontravam-se com níveis de hemoglobina inferiores a 11 g/dL, portanto em situação de anemia. Foi observado que existe associação entre as variáveis níveis de retinol sérico e hemoglobina ( $p=0,002$ ), porém esta associação mostrou-se fraca ( $r = 0,22$ ). Entretanto, ao aplicar o teste de correlação de Pearson entre os níveis de hemoglobina e de retinol, materno e da criança não foi verificada nenhuma associação ( $p=0,05$  e  $p= 0,19$ ). (figura 1).

## DISCUSSÃO

A literatura aponta para a susceptibilidade das crianças em apresentarem deficiências de vários micronutrientes de forma simultânea, ou seja, é possível supor que quando uma criança apresenta a deficiência de um micronutriente, ela também estará em risco de apresentar outras deficiências concomitantemente <sup>(9,11)</sup>.

A baixa ocorrência de níveis inadequados de retinol sérico na população estudada associada a uma elevada prevalência de anemia vem a corroborar com a literatura. No entanto são escassos os dados referentes a estudos com crianças aos seis meses de idade. Na sua maioria os estudos abordam o intervalo entre 6 a 59 meses não colocando em questão o período referente ao aporte oferecido pelo aleitamento materno no que diz respeito a vitamina A e ao ferro (0 a 6 meses).

De acordo com a plausibilidade biológica este período seria acobertado pelo aleitamento materno exclusivo, sobretudo nos primeiros dias de vida da criança, como mostra Dimenstein analisando o colostro em puérperas no Rio Grande do Norte o qual concluiu que a suplementação de vitamina A foi capaz de elevar os níveis de retinol no colostro, fornecendo quantidade suficiente para satisfazer o dobro das necessidades de retinol do recém-nascido <sup>(17)</sup>.

É importante ressaltar que nessa mesma população (dados não publicados) 23,1% das crianças apresentavam níveis deficientes de retinol sérico logo após o nascimento sendo esse percentual bastante reduzido aos seis meses.

Uma explicação plausível para os dados aqui apresentados poderia estar baseada numa resposta fisiológica, ou seja, as mães destas crianças receberam a megadose no pós-parto imediato, como recomenda o Programa Nacional de Suplementação com a vitamina A do Ministério da Saúde, associada ao fato de que a maior parte da amostra estava em aleitamento materno, o que nos levaria a supor que de certa forma as crianças estariam recebendo um aporte de vitamina A seja pelo leite materno seja pela alimentação complementar.

Estudo realizado com crianças de 6 e 60 meses no Estado de Sergipe observou que aquelas entre seis a 24 meses de idade apresentaram um percentual mais elevado (34,8%) de níveis de retinol sérico baixos e deficientes ( $<0,70 \mu\text{mol/l}$ ) quando comparado às maiores de 25 meses (30,5%), embora não tenha sido constatada significância estatística segundo a faixa etária<sup>(18)</sup>.

A ausência de associação entre as variáveis socioeconômicas e as concentrações séricas de retinol observada no estudo foi também documentada por diversos autores<sup>(19,20)</sup> que referem que essas variáveis não estão associadas à carência de vitamina A e que, com exceção das situações de extrema pobreza, a renda e escolaridade parecem não ter relação na determinação desta condição carencial, reforçando o pressuposto de que a ingestão inadequada de alimentos fonte de vitamina A seja o principal fator etiológico da carência desta vitamina, e que sua exclusão ou baixo consumo estão mais relacionados a questões culturais e hábitos alimentares do que a fatores econômicos. No entanto, sabe-se que condições socioeconômicas desfavoráveis produzem piores resultados na saúde da população.

A elevada prevalência de anemia observada é um fato preocupante que remete para a necessidade de maiores cuidados com essa faixa etária e merece pelo menos três explicações: a primeira seria de ordem fisiológica que aponta para a maior vulnerabilidade de crianças até os 2 anos de idade à anemia determinada pela velocidade de crescimento nessa faixa etária; uma segunda seria pela elevada prevalência de desmame precoce no País associada a uma inadequada introdução de alimentos ou seja uma oferta de dietas com baixo teor em ferro. Em terceiro lugar pela maior prevalência de doenças como diarreia e infecções respiratórias nos primeiros anos de vida<sup>(21)</sup>.

Salzano *et al.*<sup>(22)</sup> analisando dois serviços ambulatoriais, em Recife, PE, encontraram prevalências que variaram de 41,0% a 77,0% em faixas etárias inferiores a 24 meses. Soares *et al.*<sup>(23)</sup>, estudando crianças menores de 12 meses, em dois bairros periféricos de Fortaleza

(Ceará), registraram prevalência de 60,0%. Ainda pode ser referido um estudo com população de crianças entre seis e 24 meses no ambulatório do IMIP em que foi encontrado um percentual de anemia de 92,7% <sup>(24)</sup>.

O aleitamento materno nos primeiros 6 meses de vida é tido como um fator de proteção para anemia, principalmente se for exclusivo. O efeito protetor do aleitamento natural é mais evidente nos primeiros seis meses de vida, tendo a partir daí, a ingestão de outros alimentos papel preponderante para suprir as necessidades de ferro no organismo <sup>(21)</sup>.

Embora tenha sido observada uma significância estatística entre a hemoglobina e o tipo de aleitamento, estas as diferenças apresentadas, na prática clínica, não mostram impacto sobre o estado de saúde da criança. Embora os dados não apontem uma associação entre os níveis de hemoglobina maternos e da criança aos seis meses de vida, há evidências na literatura de que crianças, mesmo aquelas com peso adequado, mas filhas de mães anêmicas, tem baixos estoques de ferro ao nascer e, conseqüentemente, maiores chances de desenvolver anemia, independente do tipo de aleitamento que esta recebe <sup>(25)</sup>.

A existência da relação entre o retinol sérico e os níveis de hemoglobina vem corroborar com a literatura que, maioria das vezes, a deficiência de vitamina A pode ser um fator contribuinte para os níveis baixos de hemoglobina. É sugerido que a vitamina A tem um efeito no metabolismo do ferro, entretanto, este mecanismo ainda não está totalmente esclarecido. É possível que a vitamina A não interfira diretamente na absorção do ferro pelo trato intestinal, mas sim por meio de mobilização das reservas de ferro disponíveis e da utilização de ferro para a formação de hemoglobina <sup>(26)</sup>.

Nossos achados apontam para uma associação entre as concentrações de retinol sérico e os níveis de hemoglobina, embora as crianças do estudo, em sua grande maioria, não apresentaram níveis baixos de retinol. Nossos resultados corroboram com os de Willows & Gray-Donald <sup>(27)</sup> envolvendo crianças de nove meses de idade que não apresentavam sinais de deficiência de vitamina A e também observaram correlação positiva entre retinol sérico e concentração de hemoglobina e ferro sérico.

Os mecanismos que explicam a relação entre vitamina o status de A e ferro ainda não são bem conhecidos, embora tenha sido especulado que a vitamina A é necessária para a liberação de ferro para manter níveis adequados deste micronutriente do plasma para a medula óssea e que isto pode aumentar a absorção do mesmo, talvez evitando o efeito inibitório dos fitatos e polifenóis neste processo <sup>(28, 29)</sup>.

Conclui-se que a elevada prevalência de anemia e a deficiência de vitamina A numa menor proporção são consideradas ainda um problema de saúde pública de grande magnitude

principalmente na Região Nordeste e, que coexistindo caracterizam o que se chama de fome oculta e atinge, sobretudo, populações de crianças menores de cinco anos. Nossos achados revelam que deve ser ressaltada cada vez mais a importância do aleitamento materno e seu reconhecimento como melhor método de alimentação para lactentes que associados à alimentação complementar adequada (a partir dos seis meses) representam uma prática eficiente para a prevenção destes agravos nesta população.

### **Agradecimentos:**

Agradecemos ao Ministério da Ciência e Tecnologia (contrato n. 4807/2005, processo 25000.202.039/2005-11) pelo financiamento da pesquisa; ao Centro de Investigação em Micronutrientes (CIMICRON) da Universidade Federal da Paraíba-UFPB, pela análise do retinol sérico; ao Instituto de Medicina Integral Prof<sup>o</sup> Fernando Figueira – IMIP pelo apoio logístico e as mães das crianças por permitirem a participação destas no estudo.

### **Referências bibliográficas**

1. Diskhuizen MA, Wieringa FT, West CE, Muherdiyantiningsih M. Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 786-91.
2. Underwood B. Health and nutrition in women, infants, and children: overview of the global situation and the Asian enigma. *Nutr Rev.* 2002; 60 (Suppl): S7-S13.
3. WHO (World Health Organization). Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva; 1996. (Micronutriente Serie).
4. Olson JA. Recommended dietary intake (RDI) of vitamin in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987; 45: 704-16.
5. Ramalho A, Anjos LA, Flores H. Hipovitaminose A em recém-nascidos em duas maternidades públicas no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 1998; 14: 821-7.
6. McLaren DS, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington, DC: OPS; 1999.

7. Brasil. Ministério da Saúde. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher PNDS, 2006. Série G. Estatística e Informação em Saúde. Brasília. DF, 2009. 296 p.
8. Braga JAP et al. Deficiência de ferro na criança. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(Supl. 2):38-44.
9. Ferraz IS et al. Prevalência da carência de ferro e sua associação com a deficiência de vitamina A em pré-escolares. J. Pediatr. 2005;81(2).
10. Yamamura CM, Sullivan KM, van der Haar F, Auerbach SB, Iohp KK. Risk Factors for Vitamin A Deficiency among Preschool Aged Children in Pohnpei, Federated States of Micronesia. J Trop Pediatr (2004) 50 (1): 16-19.
11. Palafox et AL. Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool children in the Republic of the Marshall Islands. Nutrition. 2003(5).
12. Furr HC, Clifford AJ, Jones AD. Analysis of apocarotenoids and retinoids by capillary gas chromatography-mass spectrometry. Methods in enzymology. 1992;213:281-90.
13. World Health Organization (WHO). Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. (Micronutrient Series, 10). Geneva: WHO; 1996.
14. Demayer, E.M. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. Geneva: WHO, 1989. 58p.
15. Jelliffe D. Evaluación del estado de nutrición de la comunidade. 5ª ed. Ginebra 1968:10-101.
16. Frisancho A. Methods and materials. The American J of Clinical Nutrition Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Michigan: The University of Michigan Press 1990:9-30.
17. Dimenstein R, Lourenço RMS, Ribeiro KDS. Impacto da suplementação com retinil palmitato no pós parto imediato sobre os níveis de retinol do colostro. Rev Panam Salud Publica. 2007;22(1):51-54.

18. Martins MC, Santos LMP, Assis AMO. Prevalência da hipovitaminose A em pré-escolares no Estado de Sergipe, 1998. *Rev. Saúde Pública.* 2004; 38(4): 537-42.
19. Santos MA., Rezende E.G, Lamounier J. A, Galvão MAM, Bonomo E., Leite RC. Hipovitaminose A em escolares da zona rural de Minas Gerais. *Rev. Nutr., Campinas.* 2005;18(3):331-339.
20. Ramalho RA, Flores H, Accioly E, Saunders C. Associação entre deficiência de vitamina A e situação sociodemográfica de mães e recém nascidos. *Rev Assoc Med Bras.* 2006; 52(3): 170-5.
24. Silva LS M, Giugliani ERJ e Aerts DRGC. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2001; 35(1):66-73.
21. Salzano, A.C. et al. Anemias em crianças de dois serviços de saúde de Recife, PE (Brasil). *Rev. Saúde públ.* 1985; 19:499-507.
22. Soares NT, Guimarães ARP, Sampaio HAC, Almeida PC, Coelho RR. Estado nutricional de lactentes em áreas periféricas de fortaleza *Rev. Nutr.* 2000; 13(2): 99-106.
23. Leal LP, Osório MM. Diagnostic accuracy comparison between clinical signs and hemoglobin color scale as screening methods in the diagnosis of anemia in children *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* 2006; (2): 183-189.
25. Osório MA. Fatores determinantes da anemia em crianças. *J Pediatr.* 2002; 78 (4):269-78.
26. Teixeira MLPD, Lira PIC, Coutinho SB, Eickmann SH, Lima MC. Influência do tipo de aleitamento materno e da presença de anemia na mãe na concentração de hemoglobina aos 6 meses de idade. *J Pediatr.* 2010; 86(1):65-72.
27. Willows ND, Gray-Donald K. Serum retinol is associated with hemoglobin concentration in infants who are not vitamin A deficient. *Nutrition Research.* 2003; 23: 891–900.
28. Garcia-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, Ramirez J, Leets I, Tropper E. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998;128:646–50.

29. Thurnham DI. Vitamin A, iron, and haemopoiesis. Lancet. 1993;342:1312–3.

## TABELAS E FIGURAS

**Tabela 1.** Distribuição das médias de retinol sérico das crianças atendidas no Serviço de Puericultura do IMIP segundo as características socioeconômicas e biológicas 2008 – 2009.

Variáveis	n	%	Médias de retinol ( $\mu\text{mol/L}$ )	DP	<i>p</i>
<b>Renda per capita</b>					
< 1 $\frac{1}{4}$	68	34,0	2,32	0,69	0,891*
$\frac{1}{4}$   - $\frac{1}{2}$	96	48,0	2,26	0,74	
$\geq \frac{1}{2}$	36	18,0	2,29	0,77	
Total	200	100			
<b>Idade materna</b>					
< 20 anos	45	21,5	2,15	0,68	0,336*
20   - 35 anos	144	68,9	2,32	0,75	
$\geq 35$ anos	20	9,6	2,39	0,64	
Total	209	100			
<b>Escolaridade materna</b>					
< 8 anos	70	33,5	2,28	0,63	0,518*
8   - 11 anos	61	29,2	2,38	0,76	
$\geq 11$ anos	78	37,3	2,24	0,78	
Total	209	100			
<b>Saneamento adequado</b>					
Sim	161	77,4	1,51	0,52	0,337*
Não	47	22,6	1,61	0,71	
Total	208	100			
<b>Sexo da criança</b>					
Masculino	97	46,0	2,30	0,75	0,853**
Feminino	114	54,0	2,28	0,69	
Total	211	100			
<b>Tipo de alimentação</b>					
Aleitamento exclusivo	42	20,1	2,24	0,61	0,878*
Aleitamento materno	118	56,5	2,29	0,74	
Aleitamento artificial	49	23,4	2,32	0,85	
Total	209	100			

ANOVA\* Teste “t”\*\*\*

**Tabela 2.** Distribuição das médias de hemoglobina das crianças atendidas no Serviço de Puericultura do IMIP segundo as características socioeconômicas e biológicas 2008 – 2009.

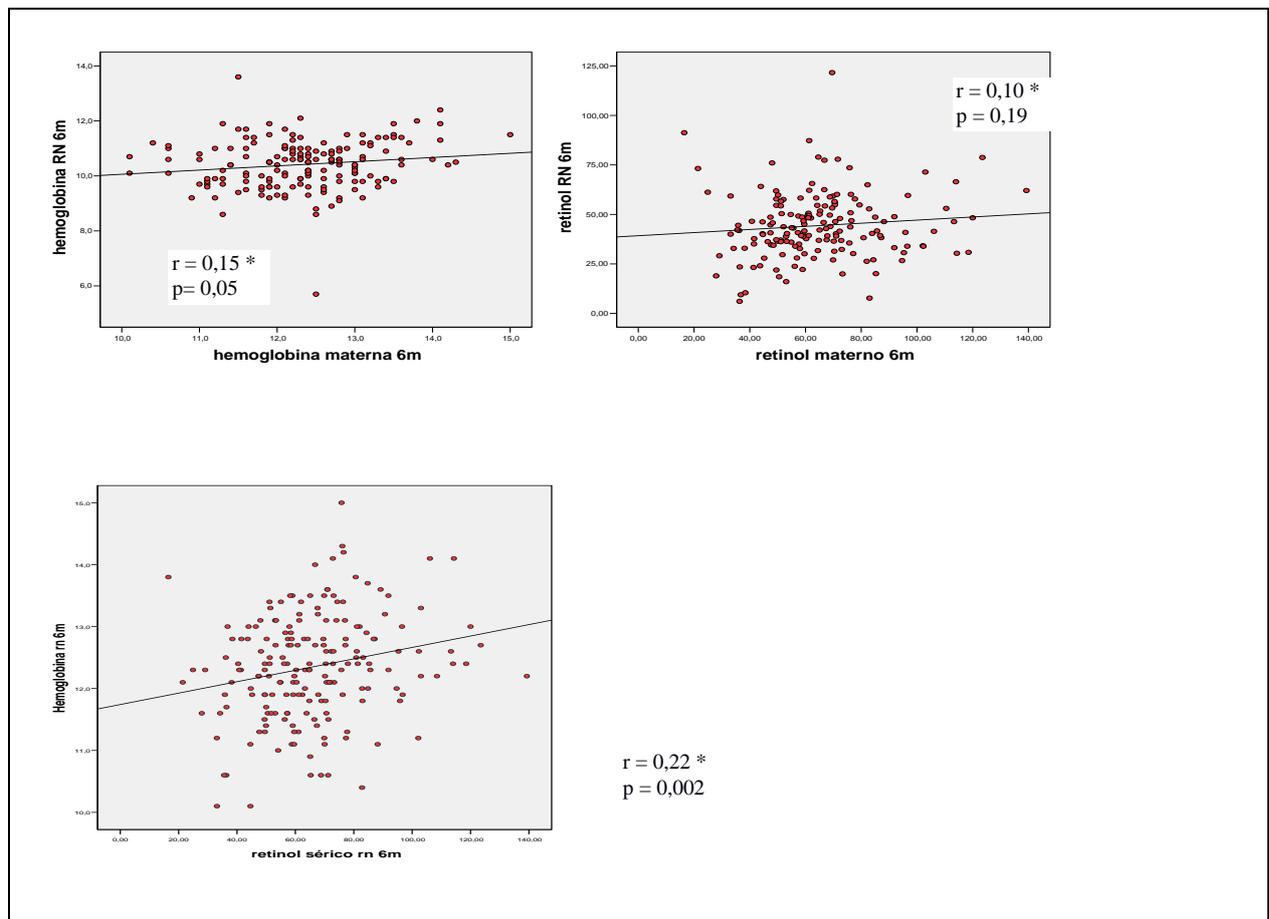
Variáveis	n	%	Médias de hemoglobina (g/dL)	DP	p
<b>Renda per capita</b>					
< 1 ¼	68	34,0	12,28	0,69	0,797*
¼   - ½	96	48,0	12,37	0,88	
≥ ½	36	18,0	12,34	0,99	
Total	200	100			
<b>Idade materna</b>					
< 20 anos	45	21,5	12,18	0,85	0,417*
20   - 35 anos	144	68,9	12,38	0,83	
≥ 35 anos	20	9,6	12,33	0,96	
Total	209	100			
<b>Escolaridade materna</b>					
< 8 anos	70	33,5	12,28	0,87	0,816*
8   - 11 anos	61	29,2	12,38	0,74	
≥ 11 anos	78	37,3	12,33	0,92	
Total	209	100			
<b>Saneamento adequado</b>					
Sim	161	77,4	43,42	14,85	0,337**
Não	47	22,6	46,25	20,23	
Total	208	100			
<b>Sexo da criança</b>					
Masculino	97	46,0	12,36	0,84	0,718**
Feminino	114	54,0	12,31	0,87	
Total	211	100			
<b>Tipo de alimentação</b>					
Aleitamento exclusivo	42	20,1	12,06	0,83	0,048*
Aleitamento materno	118	56,5	12,45	0,84	
Aleitamento artificial	49	23,4	12,29	0,88	
Total	209	100			

ANOVA\* Teste “t”\*\*

**Tabela 3.** Concentrações de retinol sérico e de hemoglobina de crianças atendidas em um serviço de puericultura cidade do Recife, 2008-2009.

Retinol sérico $\mu\text{mol/L}$	n	%	IC <sub>95%</sub> *
< 0,70	8	4,6	2,2-9,2
0,70 -1,05	18	10,4	6,5-16,2
$\geq 1,05$	147	85,0	78,8-89,8
Total	173	100,0	
Hemoglobina g/Dl			
< 11	137	72,9	66,6-79,7
$\geq 11$	51	27,1	20,8-33,8
Total	188	100,0	

\*IC<sub>95%</sub>= Intervalo de confiança



\*Correlação de Pearson

Figura 1. Associação entre as concentrações séricas de retinol e hemoglobina de mães e crianças aos seis meses de idade atendidas em um serviço de Puericultura do Recife-2008/2009.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As observações epidemiológicas que relacionam a Deficiência de Vitamina A (DVA) ao aumento das taxas de morbidade e mortalidade infantil desenham um quadro preocupante no cenário nacional. De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde, em 1995, o Brasil foi classificado como área endêmica dessa carência por apresentar a ocorrência da deficiência de concentrações séricas de retinol ( $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ) em cerca de 15% da população, caracterizando assim um problema de saúde pública. Desde então, a necessidade de combater a DVA ganhou uma nova dimensão. No entanto, os dados nacionais disponíveis sobre essa deficiência ainda são escassos, principalmente na Região Nordeste.

A DVA é uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre crianças e mulheres em idade fértil em países em desenvolvimento em todo mundo. Caracterizada pela supressão imunológica e aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas, a identificação de população de risco para a DVA é importante para que grupos-alvo possam se beneficiar de intervenções para melhorar os níveis de vitamina A.

Existem evidências de que a hipovitaminose A é prevalente entre as diversas camadas da população, principalmente as menos favorecidas, em virtude das mesmas apresentarem alta prevalência de infecções, falta de saneamento ambiental e de água tratada, condições socioeconômicas desfavoráveis e ingestão inadequada de alimentos fontes de vitamina A. Uma possível explicação da ausência da associação das concentrações séricas de vitamina A e as variáveis socioeconômicas aqui apresentadas poderia ser atribuída ao perfil da população estudada que, embora inserida em região considerada de risco, aponta para uma situação de pobreza, porém não em condições extremas.

Considerando-se a dimensão da DVA refletida no binômio mãe-filho no momento do parto (23,0%) e aos seis meses (4,6%), respectivamente, os resultados encontrados apontam para a inclusão de estratégias que possam intervir durante a gestação, período de grande vulnerabilidade aninhado ao período de lactação.

Um fato que merece reflexão é o declínio da deficiência da vitamina A numa correlação inversa ao aumento da anemia corroborando com evidências científicas existentes. Embora não tenha sido o foco do estudo, a elevada prevalência de anemia observada é um fato preocupante que nos remete para a necessidade de maiores cuidados com essa faixa etária.

Numa primeira leitura, a perda amostral registrada poderia ser um fator capaz inviabilizar o estudo aqui apresentado, porém, quando realizada a análise desses dados,

observou-se que não houve interferência na composição dos grupos estudados e nem nas características dos participantes em nenhum dos períodos do seguimento. Mesmo assim, torna-se necessário comentar as limitações pertinentes aos estudos experimentais aleatorizados controlados, uma vez que, por sua natureza, a técnica da aleatorização tem como benefício distribuir equitativamente as variáveis confundidoras entre os grupos estudados (intervenção e controle), independentemente de serem as referidas variáveis conhecidas ou não.

Dessa forma, no presente estudo, por se tratar de desenho de cunho analítico, algumas questões foram consideradas, entre elas a questão ética e a questão de ordem logística. Em relação a primeira, é condição imprescindível a aleatorização dos participantes entre os grupos estudados, impedindo assim a negação do tratamento a um grupo de indivíduos, uma vez que estamos diante de um estudo de eficácia de uma intervenção comprovada cientificamente; já a segunda questão refere-se ao pequeno número amostral quando se pretende testar o efeito de uma intervenção. É importante mencionar que o rigor metodológico, as técnicas analíticas e o número de avaliações realizadas no presente estudo durante o seguimento fornecem evidências contra os possíveis fatores de confundimento e explicações alternativas para as associações observadas.

Ressaltamos aqui as perdas de seguimento factíveis aos estudos de intervenção que motivaram a não permanência das crianças no nosso estudo: distância da moradia dos participantes até o IMIP, incluindo as mudanças de endereço ocorridas no período do estudo, bem como a coleta do material biológico, pois os pais mostravam-se bastante sensibilizados pelos desconfortos à criança ao realizar este procedimento (hematomas no local da punção e até mesmo o choro da mesma durante a coleta). É importante salientar que a punção no paciente pediátrico, na maioria das vezes, não se mostra tão facilitada quanto no adulto. Embora esta punção tenha sido realizada por profissional com experiência nesta prática, o desconforto da criança fez com que o procedimento da coleta fosse o mais breve possível, incluindo-se a diminuição da alíquota a ser analisada, sendo este um dos motivos pelo qual foi dada prioridade à coleta de material para análise das concentrações séricas de retinol, em detrimento das concentrações de hemoglobina que foi realizada apenas no sexto mês.

Apesar dos esforços desempenhados por toda equipe de pesquisa em relação ao apoio e incentivo ao aleitamento materno exclusivo, a maior parte das crianças já não o recebiam sob esta modalidade, muito embora a maioria delas ainda oferecesse este alimento, mesmo com a introdução, muitas vezes precoce da alimentação complementar. Os dados aqui apresentados reforçam a necessidade de maior empenho nas questões relacionadas às práticas

alimentares durante, principalmente, a assistência pré-natal, cujo objetivo é melhorar a compreensão da ação da vitamina A no organismo como prevenção dos efeitos deletérios na presença de um baixo consumo desse nutriente.

Algumas limitações podem ser mencionadas, entre elas a ausência de informação acerca das reservas hepáticas de retinol, o que impossibilitou a realização de associações que pudessem explicar com mais clareza os benefícios da suplementação com a dupla megadose sobre as concentrações séricas deste micronutriente nesta população. Outra limitação seria uma restrição em prever estas conclusões para outras populações, considerando que o estudo não foi de base populacional e ainda com um perfil socioeconômico diferenciado, mesmo em se tratando de área endêmica para hipovitaminose A.

A análise dos resultados deste trabalho conduz a ponderações relevantes acerca do programa nacional “Vitamina A Mais”. No que diz respeito a distribuição das cápsulas aos seis e doze meses de vida, a princípio poderíamos pressupor que a referida recomendação deveria ocorrer em períodos mais tardios, enfatizando, assim, a necessidade da realização de estudos que avaliassem as concentrações séricas de retinol, bem como das reservas hepáticas da criança após o sexto mês, evidentemente daquelas que receberam o aleitamento materno durante este período, o que foi concernente às crianças do estudo.

Enfim, apesar de não se observar efeitos adicionais da dose de 400.000UI é consenso o benefício da suplementação com 200.000UI em vigor preconizada pela OMS em áreas de risco.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. L. L. S.; **Prevalência de hipovitaminose A e potenciais fatores de risco em crianças menores de 5 anos no Estado de Pernambuco 1997**. 2000, 130 f. Tese (Doutorado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- ARAÚJO, R. L. et al. Diagnóstico da situação da hipovitaminose A e da anemia nutricional na população do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Arch Latinoam Nutr.** v. 36, n. 4, p. 642-653, 1986.
- AZEVEDO, M.M.S. et al. Deficiência de vitamina A em pré-escolares da cidade do Recife, Nordeste do Brasil. **Arch Latinoam Nutr.**, v. 60, n. 1, p. 36-41, 2010.
- BATISTA FILHO, M.; TEIXEIRA, S. G.; LINHARES, E. Retinol sérico de gestantes atendidas em serviço de saúde pública. **Rev Bras. Pesquisas Méd. Biol.**, v.6, p. 299-334, 1973.
- BATISTA FILHO, M.; TORRES, M. A. A. Acesso à terra e situação nutricional em populações do semi-árido nordestino. **Rev Pernambucana Desenv.**, v. 9, n. 1, p. 101-19, 1982.
- BHASKARAM, P. Immunobiology and mild micronutrient deficiency. **Br J Nutr**, v.85, p. 57-80 S75-80, May 2001. (Suppl. 2)
- BOOTH, S. L; JOHNS, T; KUHNLEIN, H. V. Natural food sources of vitamin A and provitamin A. **Food Nutr Bull**, v. 14, n. 1 p. 6-19, 1992.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. **Vitamina A Mais - Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A**: condutas gerais. Brasília, DF; 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006**: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança/ Ministério da Saúde, Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
- BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE/INAN-IMIP-DN/UFPE-SES/PE. **II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: saúde, nutrição, alimentação e condições sócio-econômicas no Estado de Pernambuco**. Recife, 1998.
- CHISWICK, M. et al. Vitamin E supplementation and periventricular hemorrhage in the newborn. **Am J Clin Nutr**, v. 53, n. 1, p. 3705-3725, 1991.
- CHRISTIAN, P. et al. Maternal night blindness increases risk of mortality in the first 6 months of life among infants in Nepal. **J. Nutr.**, v. 131, n. 5, p. 1510-1512, May 2001.
- CHRISTIAN, P. Recommendations for indicators: night blindness during pregnancy – a simple tool to assess vitamin A in a population. **J Nutr**, v. 132, p. 2884S-2888S, Sept. 2002.
- DANCIS, J. Transfer and metabolism of retinol by the perfused human placenta. **Pediatr. Res.**, v. 32, n. 2, p. 195-199, Aug. 1992.

DARCIE, S. et al. Vitaminas lipossolúveis no suporte nutricional do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. **Pediatria**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 195-206, jul./set. 1997.

DE BENOIST, B; MARTINES, J; GOODMAN, T. **Food and Nutrition Bulletin: Special issue on vitamin A supplementation and the control of vitamin A deficiency.** v. 22, n. 2. The United Nations University Press, New York, NY, 2001.

DEMAEYER, E. **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care.** A guide for health administrations and programme managers. Geneva: WHO, 1989.

DIBLEY, J.M.; JEACOCKE, D. A. Safety and toxicity of vitamin A supplements in pregnancy. **Food Nutr Bull**, v. 22, n. 3, p. 248-266, 2001.

DIMENSTEIN, R. et al. Effect of subadequate maternal vitamin A status on placental transfer of retinol and beta-carotene to the human fetus. **Biol. Neonate**, v. 69, n. 4, p. 230-234, 1996.

DINIZ, A. S.; SANTOS, L. M. P. Hipovitaminose A e xerofthalmia. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 76, p. 311-322, 2000. Suplemento 3.

DRICOT-D'ANS, C. et al. Geographic distribution of xerophthalmia in the state of Paraíba, Northeast Brazil. **Ecol Food Nutr**, v. 22, n. 2, p. 131-138, 1988.

FERNANDES, T.F.S. et al. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 471-480, jul./ago. 2005

FLORES, H.; ARAÚJO, C.R.C. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. **Am. J. Clin.Nutr.**, v. 40, p. 146-152, July 1984.

FLORES, H. et al. O programa de vitamina A em Caruaru: uma iniciativa bem sucedida. In: **II Simpósio Internacional de Nutrição**, v.1, 1988, Recife. Anais... Recife: UFPE, p. 35.

FURR, H.C; TANUMIHARDJO, S.A; OLSON, J.A. **Training manual for assessing vitamin A status by use of the modified relative dose response and the relative dose response assays.** Sponsored by the USAID Vitamin A Field Support Project-VITAL. Washington, 1992.

GERALDO, R. R. C. et al. O. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 443-460, out./dez. 2003.

GOMES, F.S. et al. Plasma retinol levels of pre school children in the sugar-cane area of Northeast Brazil. **Arch Latinoam Nutr**, v. 20, p. 445-451, 1970.

GONÇALVES-CARVALHO, C. M. R. et al. Prevalência de hipovitaminose A em crianças da periferia do município de Campinas, São Paulo, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 11, n. 1, p. 85-96, jan./mar. 1995.

KELNER, M. **Vitamina A e caroteno no ciclo grávido-puerperal**: estudo de alguns aspectos em pacientes pobres do Recife. 1966. 125f. Tese (Doutorado em nutrição). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1966.

KIRKWOOD, B. Supplementation of infants and/or their mothers with vitamin A during the first six months of life. **Food Nutr Bull**, v. 22, n.3, p. 285-294, 2001.

LI, E; NORRIS, A. W. Structure/function of cytosolic vitamin A-binding proteins. **Annu Rev Nutr**, v. 16, p. 205-234, 1996.

MAHAN, L. K.; STUMP, S. E. What is a vitamin? In: KRAUSE'S. **Food Nutrition & Diet Therapy**. W.B. 10 ed. Saunders Company, 2000. p.68-109

MARIATH, J. G. H.; LIMA, M. C. C.; SANTOS, L. M. P. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera Mart*) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 49, p. 849-853, 1989.

MARTINS, M. C. et al. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.20, n.1, p. 5-18, jan./fev. 2007

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

McAULIFFE, J. et al. **A deficiência de vitamina a e estratégias para o seu controle: um guia para as secretarias municipais de saúde**. Fortaleza: Project HOPE; 1991.

MILLER, M. et al. Why do children become vitamin A deficient? **J Nutr**, v. 132, p. S2867S-2880S, Sept. 2002.

OPS (Organización Panamericana de la Salud). Visión Integrada de la suplementación con vitamina A en las Américas. Informe de la Reunión Regional. 2-4 de mayo del 2001, Managua, Nicaragua. HPP/HPN/MN/49-17. Washington: OPS. 2001.

PALAFIX, N. A. et al. Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool. **Nutrition**, v. 19, n. 5, p. 405-408, May 2003.

PAIVA, A.A. et al. Prevalência de deficiência de vitamina A e fatores associados em pré-escolares de Teresina, Piauí, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 22, n. 9, p.1979-1987, set. 2006.

PUFFER, R.R.; SERRANO, C. **Patterns of birth weight**. Washington (DC): PAHO; 1987. (Scientific Publication, 504).

RAMALHO, R. A. et al. Associação entre deficiência de vitamina a e situação sociodemográfica de mães e recém-nascidos. **Rev Assoc Med Bras**, v. 52, n. 3, p. 170-175, maio/jun. 2006.

\_\_\_\_\_; ANJOS, L.A.; FLORES, H. Hipovitaminose A em recém-nascidos em duas maternidades públicas no Rio de Janeiro, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 14, n. 4, p. 821-827, out./dez. 1998.

\_\_\_\_\_. Valores séricos de vitamina A e teste terapêutico em pré-escolares atendidos em uma unidade de saúde do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista de Nutrição**, v. 14, n.1, p. 5-12, jan./abr. 2001.

RONDÓ, P. H. C; ABBOTT, R.; TOMKINS, A. M. Vitamina A e retardo de crescimento intra-uterino. **J Pediatr**, v. 73, n. 5, p. 335-339, 1997.

ROSS, D.A. Recommendations for supplementation. **J Nutr**, v. 132, p. 2902-2906, Sept. 2002.

SANTOS, L.M.P. et al. Situação nutricional e alimentar de pré-escolares no semi-árido da Bahia: II. Hipovitaminose A. **Rev Saúde Públ**, v. 29, n. 6, p. 463-471, 1996.

\_\_\_\_\_. Xerophthalmia in the state of Paraíba, Northeast of Brazil: clinical findings. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 38, n. 1, p. 139-144, July 1983.

SEMBA, R. D.; BLOEM, M. W. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. **Eur J Clin Nutr**, v. 56, n. 4, p. 271-281, Apr. 2002.

SHATRUGNA, V. et al. Interaction between vitamin A and iron: effects of supplements in pregnancy. **Int J Vitam Nutr Res.**, v. 67, n. 3, p. 145-148, 1997.

SILVA, L. S. V. et al. Micronutrientes na gestação e lactação. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, Recife, v. 7, n. 3, p. 237-244, jul./set., 2007.

SOBREIRA, I.A. **Hipovitaminose A em grupo de crianças atendidas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco – IMIP: valor do teste Rosa de Bengala e uso de doce maciça de vitamina A. Recife, 1987.** Dissertação (Mestrado em Pediatria) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 1987.

SOMMER, A.; TARWOTJO, I.; KATZ, J. Increased risk of xerophthalmia following diarrhea and respiratory disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, n. 5, p. 977-980, May 1987.

SUHARNO, D. et al. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. **Lancet.**, v. 342, p. 1325-1328, Nov. 1993

TEIXEIRA, R. A. **Deficiência de Vitamina A e Fatores Associados em Crianças e Adolescentes em dois Municípios do Semiárido de Minas Gerais.** Belo Horizonte, 2010. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

UNDERWOOD, B. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. **Am. J Clin. Nutr.** v. 59, n. 2, p. 517-524, Feb. 1994.

UYSAL, G. et al. Serum vitamin A levels in children with persistent diarrhoea and impact on clinical profile. **J Trop Pediatr**, v. 45, n. 6, p. 376-377, Dec. 1999.

VANNUCCHI, H. Interaction of vitamins and minerals. **Arch Latinoam Nutr**, v. 41, n. 1, p. 9-18, Marc. 1991.

VASCONCELOS A. M A, FERREIRA H S. Prevalência de Hipovitaminose A em Crianças da Região Semi-Árida de Alagoas (Brasil), 2007. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59, n. 2, p. 152-158, 2009.

VINUTHA, B; METHA M.N; SHANBAG, P. Vitamin A status o pregnant women and effect of post partum vitamin A supplementation. **Indian Pediatr.**, v. 37, n. 11, p. 1188-1193, Nov. 2000.

WEST, K. P. Extent of vitamin deficiency among pre-school children and women of reproductive age. **J Nutr.**, v. 132, p. 2857S-2866S, Sept. 2002.

WHO/CDH. Immunization-Linked Vitamin A Supplementation Study Group. Ramdomised trial to assess benefits and safety of vitamin A supplementation linked to immunization in early infancy. **Lancet**, v. 352, p.1257-1263, 1998.

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

WHO. **Using immunization contacts as a gateway to eliminating vitamin A deficiency**. Geneva: WHO, 1994.

WHO Multicentre Growth Reference Study Group. **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.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, \_\_\_\_\_, registro n° \_\_\_\_\_, declaro que fui devidamente esclarecida pelo auxiliar de pesquisa \_\_\_\_\_ em relação à pesquisa sobre “Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no *post partum* imediato sobre o estado nutricional de vitamina A e ferro no binômio mãe-filho e no crescimento e morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno” e estou perfeitamente consciente que:

O estudo tem como objetivo avaliar o efeito da suplementação materna com 400.000 UI de palmitato de retinol oral no pós-parto imediato, na situação nutricional do binômio mãe-filho, e no crescimento e na morbidade das crianças em aleitamento materno e até os seis primeiros meses de vida.

Não existem riscos potenciais à saúde dos examinados. No entanto todos os pacientes serão monitorados para detecção precoce de eventuais efeitos secundários da megadose de vitamina A mediante exame clínico/oftalmológico. O eventual surgimento de um efeito adverso, o mesmo será prontamente contornado pela equipe de saúde do projeto. No que diz respeito a coleta de material biológico serão repassadas as informações concernentes ao procedimento, inclusive sensação dolorosa, aparecimento de hematomas, etc e a equipe se responsabilizará pela assistência adequada.

Receberei respostas a perguntas ou esclarecimentos a qualquer dúvida, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa; para isso, poderei me comunicar em qualquer momento com as pesquisadoras (Fátima Caminha, Taciana Fernandes, Carmina Santos e Luciana Andreto), pelos telefones (88412121, 92324542, 91682796 e 91080939).

Será aplicado um questionário para se conhecer os alimentos consumidos pela mãe, em especial os alimentos fontes de vitamina A e de ferro.

Estou concordando livremente em participar, sem receber qualquer tipo de pressão.

Continuarei a ser atendida no IMIP, dispondo de toda atenção, independentemente da minha participação na pesquisa.

Não serei identificada e será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à minha privacidade.

Tenho o direito de saber o resultado da pesquisa, se assim o desejar.

Poderei abandonar a qualquer momento a pesquisa caso não me sinta satisfeita, sem que isso venha prejudicar o meu atendimento no IMIP.

Recife, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Declaro, finalmente, que concordei em participar da pesquisa

\_\_\_\_\_  
ENTREVISTADA

\_\_\_\_\_  
PESQUISADORA

**APÊNDICE B – Manual do pesquisador****PROJETO PESQUISA:**

**Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no *post partum* imediato sobre o estado nutricional de vitamina A no binômio mãe-filho e no crescimento e morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno**

<b>MANUAL DO PESQUISADOR</b>
------------------------------

**EQUIPE DE ELABORAÇÃO:**

- Alcides da Silva Diniz
- Ilma Kruze Grande de Arruda
- Ana Rodrigues Falbo
- Ariani Impieri de Souza
- Taciana Fernanda dos Santos Fernandes
- Luciana Marques Andreto
- Maria de Fátima Costa Caminha
- Carmina Santos

**RECIFE****2007**

## SUMÁRIO

<b>1. Instruções básicas</b>	<b>.....03</b>
<b>2. Equipe de trabalho</b>	<b>.....03</b>
<b>3. Aspectos éticos da pesquisa</b>	<b>.....04</b>
<b>4. Instruções gerais</b>	<b>.....05</b>
<b>5. Normas padronizadas</b>	<b>.....07</b>
<b>5.1 Medidas antropométricas</b>	<b>.....07</b>
<b>5.2 Morbidade</b>	<b>.....08</b>
<b>5.3 Medidas bioquímicas</b>	<b>.....09</b>
<b>5.4 Consumo alimentar</b>	<b>.....13</b>
<b>6. Formulários</b>	<b>.....15</b>

## 1. INSTRUÇÕES BÁSICAS

**O objetivo deste manual é fornecer orientação básica à equipe da pesquisa do “Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no post partum imediato sobre o estado nutricional de vitamina A no binômio mãe-filho e no crescimento e morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno” na condução dos trabalhos de campo, no preenchimento dos formulários e na tomada das medidas antropométricas, bioquímicas e coleta do leite humano**

Com este manual, todos os pesquisadores seguirão um critério único para as definições dos termos e preenchimento dos formulários. Todas as vezes que tiver dúvida a respeito de quaisquer das questões, CONSULTE-O.

A negligência das observações e orientações aqui definidas resultarão na modificação de conceitos e operações, afetando os resultados, comprometendo a qualidade do estudo e, portanto, invalidando-o.

Este manual é composto de dois blocos: o primeiro engloba as orientações sobre os aspectos gerais do estudo, o segundo, versa sobre as orientações específicas do preenchimento do formulário.

## 2. EQUIPE DE TRABALHO

- Coordenadores
- Pesquisadores
- Colaboradores:
  - Auxiliares de pesquisa
  - auxiliares de enfermagem
  - bioquímicos
  - enfermeiros
  - médicos (ginecologista e pediatra)
  - consultores
  - alunos de pós-graduação
  - alunos de iniciação científica

### 3. ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

- O pesquisador, no momento em que é selecionado e aceita participar desse trabalho, assume um compromisso profissional e, por conseguinte, um comportamento ético na condução das tarefas que lhe são atribuídas.
- Apresentar-se de forma amigável aos participantes, dizendo o objetivo da pesquisa e citando as instituições responsáveis pela mesma.
- Explicar que a pesquisa está sendo realizada no IMIP. Se as gestantes/puérperas não se mostrarem receptivas, explicar mais detalhadamente o processo, enfatizando a importância de contar com a colaboração delas para realizar a entrevista.
- Solicitar ao informante sua permissão para realizar a entrevista. Sempre usar expressões positivas como “gostaria de conversar com a senhora por alguns minutos” ou “gostaria de fazer-lhe algumas perguntas”. Dessa forma é mais difícil receber recusa.
- Assegurar ao informante o sigilo sobre as informações fornecidas e sua utilização exclusivamente voltada para a finalidade do estudo.
- O pesquisador não deve emitir qualquer juízo sobre os entrevistados, como manifestar surpresa diante de certas respostas que toquem a sensibilidade do entrevistado ou “achar engraçada” alguma resposta por mais absurda que possa lhe parecer.
- O pesquisador **não** deve comentar entrevistas ou mostrar formulários preenchidos aos outros pesquisadores ou aos supervisores diante de pessoa alheia à pesquisa.
- O pesquisador **não** deve estar acompanhado por pessoas estranhas ao quadro da pesquisa por ocasião da realização das entrevistas, exceto da pessoa do local, considerada chave.
- O pesquisador **não** deve induzir respostas; as perguntas devem ser formuladas da maneira exata como estão escritas no formulário; caso o entrevistado não entenda o seu conteúdo, o pesquisador deve explicá-las sem, contudo, levar o entrevistado a responder o que ele (pesquisador) gostaria de ouvir como resposta. Em alguns casos, as alternativas deverão ser lidas para o entrevistado.

- Orientar as puérperas e/ou acompanhantes, **quando necessário**, sobre os encaminhamentos para outros serviços para tratamento das condições observadas durante a entrevista.
- Assegurar o retorno dos resultados dos exames realizados, o tratamento da anemia (sulfato ferroso) e da hipovitaminose A, e a orientação para a saúde das mães/crianças que apresentarem algum quadro de morbidade.
- Uma característica fundamental do pesquisador é ser **calmo e paciente** e, desconhecer as provocações que por ventura sejam feitas. Nunca discutir religião, política ou futebol.
- O pesquisador deve ter equilíbrio emocional para vivenciar as mais variadas situações que decorrem do contato com pessoas de diferentes níveis sociais e de diferentes personalidades.
- O pesquisador deve tentar conseguir convencer o entrevistado a colaborar com o estudo, sem, contudo, tomar atitude impositiva e agressiva.
- O pesquisador deverá contactar os coordenadores, caso surjam dúvidas ou problemas.

#### **4. INSTRUÇÕES GERAIS**

As orientações aqui discriminadas se referem à conduta a ser seguida independente do local, ou seja, aos dados a serem coletados por ocasião da entrevista. Todos os locais estão informados oficialmente sobre a pesquisa e serão devidamente instruídos, sobre as atividades desenvolvidas em cada um.

São elas:

A pesquisa será desenvolvida nos seguintes setores do IMIP: triagem/maternidade, PPP/COB, alojamento conjunto, laboratório de bioquímica, ambulatório de puericultura, banco de leite; e serão realizadas também, visitas domiciliares. Em cada setor do IMIP haverá uma pessoa referência.

Os formulários das visitas domiciliares terão os dados referentes à identificação, o registro domiciliar e os dados socioeconômicos pré-preenchidos, os quais deverão ser checados no momento da visita (check list). Antes de cada visita domiciliar checar o endereço e o ponto de referência.

Sempre que houver dúvidas, escrever por extenso a resposta dada pelo informante e deixar para o supervisor decidir no prazo estabelecido (rotina de revisão dos formulários).

Quando uma resposta for pouco confiável, anotar, mas fazer uma observação sobre a má qualidade da resposta.

Nunca deixar respostas em branco, observar a aplicação dos códigos especiais:

Ignorado: código 9, 99 ou 999... = resposta desconhecida do informante ou informação muito pouco confiável. Use o código de “ignorado” somente em último caso. Aproveite as respostas aproximadas, como, por exemplo, renda entre 500 e 600 reais, anotar 550 reais.

Não se aplica: código 8, 88 ou 888... = quando a pergunta não pode ser aplicada para aquele caso.

Sempre que encontrar a palavra “outro”, especificar.

Por uma questão metodológica, para garantir o controle de qualidade das informações colhidas, será efetuada checagem dos formulários preenchidos pelos pesquisadores, em uma sub-amostra de 10% dos mesmos.

O pesquisador não deve realizar codificação, nem tampouco realizar cálculos matemáticos em campo; estas atividades serão realizadas em momento posterior, quando os formulários forem revisados pelo pesquisador.

Usar lápis e borracha para preencher os formulários. Quando errar, apagar, não rasurar.

## **5. NORMAS PADRONIZADAS**

**5.1- Tomada de medidas antropométricas** A expressão numérica obtida ao registrar os dados antropométricos, deve oferecer um limite de segurança tal, que permita julgar adequadamente a intensidade do problema nutricional. O nosso objetivo é uniformizar um método, que permita às várias pessoas treinadas, obter dados antropométricos com a maior exatidão possível.

**O Peso, o comprimento, a Altura e a circunferência do braço** devem ser avaliadas por dois antropometristas. Antes de realizar a tomada de peso, observar se a balança está zerada. Os resultados devem ser anotados no formulário, sem rasura e no valor exato (sem arredondamentos). Os resultados do peso e altura não devem ser divulgados pelos antropometristas em voz alta. Anotar o peso antes da mãe e/ou a criança sair da balança.

**Peso da criança:**

Será aferido em balança, marca Filizzola, modelo BP baby 6767-00 (Indústrias Filizzola S/A., São Paulo, Brasil) com capacidade máxima de 15kg e mínima de 0,125kg e precisão de 0,005kg, estando a criança despida. O peso deverá ser anotado em gramas. Ex: 3550 g.

**Comprimento da criança:**

Será aferido utilizando um antropômetro horizontal (Misura Per Sarte, C&C, São Paulo, Brasil) com 130 cm de extensão e precisão de 0,1 cm. A criança deverá estar calma, sem sapatos, deitada em posição supina paralela ao eixo axial do instrumento, com a cabeça posicionada na linha média e tocando a borda superior do mesmo. Os pés serão fletidos em ângulo de 90° com a perna, tocando o limite inferior do antropômetro. O comprimento deverá ser anotado em cm com uma casa decimal. Ex: 48,5cm.

**Peso da mãe:**

O peso será avaliado fazendo-se uso da balança de plataforma eletrônica, marca Toledo, modelo 6063866, (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda, São Paulo, Brasil) carga máxima 150 kg e mínima de 0,125 kg e precisão de 0,05 kg. A mãe deverá ser pesada descalça e com a menor quantidade de roupa possível (o próprio investigador deve se possível, oferecer o vestuário do tipo bata para as mães a fim de melhor fazer a correção do peso), tendo cuidado de observar se a mãe não apresenta objetos nas mãos ou bolsos e adorno na cabeça. Colocar a mãe no centro da plataforma da balança (sobre o desenho da planta dos pés), em posição firme, com os braços ao longo do corpo e verificar o número do visor da balança. O peso deverá ser anotado em kg com 1 casa decimal. Ex: 75,2 kg

**Altura da mãe:**

A altura deverá ser aferida com a mãe sempre descalças e sem adornos de cabeça (ex. diadema); as mães devem ser medidas com fita Stanley que já deverá estar afixada à parede ou a alça metálica acoplada a balança. A mãe deverá ficar de pé, com os calcanhares, ombros e cabeça pegados à parede ou superfície lisa, sem dobrar os joelhos, a linha de mira (plano de Frankfurt) deve estar horizontal, e no momento de medir a altura, deslizar suavemente a esquadria, até tocar a cabeça da mãe. Retirar a mãe e anotar o número que se observar no visor da fita, o examinador deverá colocar-se frente à fita métrica, a fim de fazer a leitura em linha reta. O resultado deverá ser anotado em cm. **Ex:** 163 cm.

### **Circunferência do Braço**

A circunferência deve ser medida no ponto médio entre o acrômio (ombro) e o olécrano (cotovelo). Para sua obtenção da medida deve-se utilizar o braço não dominante, flexionado-o em direção ao tórax, fazendo um ângulo de 90<sup>0</sup> para indicação do ponto médio. Feito isso, solicitar a gestante/puérpera que deixe o braço estendido ao longo do corpo com a palma da mão voltada para a coxa, em seguida contornar o braço com a fita flexível no ponto marcado de forma ajustada, sem compressão da pele ou folga.

## **5.2 – Medidas bioquímicas**

### **5.2.1. Coleta de sangue**

A 1<sup>a</sup> coleta será realizada na sala de parto do IMIP, por auxiliar de enfermagem com experiência em coleta de sangue. Serão colhidos 5 ml de sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos e 10 mL do sangue venoso das mães, antes da suplementação com a vitamina A.

O sangue será acondicionado em quatro tubos previamente identificados e recobertos em papel alumínio para proteção contra a luz, sendo dois para o sangue do recém-nascido e dois para o sangue da mãe. Um tubo com o sangue da mãe e outro com o sangue do recém-nascido (cordão umbilical) serão utilizados para a avaliação hematológica; os outros tubos com amostras sanguíneas serão utilizados para as determinações bioquímicas: ferro sérico, transferrina, capacidade total de ligação do ferro, retinol sérico e PCR.

As coletas subsequentes de sangue serão realizadas bimensalmente até o sexto mês pós-parto no ambulatório de puericultura do IMIP. O técnico irá colher 10 ml de sangue por punção venosa cubital na mãe, em jejum, pela manhã e 3ml na criança. Após a coleta, parte do sangue (amostras) em tubos devidamente etiquetados, será enviada para análise dos parâmetros hematológicos no laboratório do IMIP e, a outra parte, após uma hora de decantação, os tubos contendo as amostras serão centrifugados a 3000 rpm (rotação por minuto), durante 10 minutos, separado o soro que será acondicionado em tubos eppendorf, protegidos da luz e armazenado no freezer à temperatura de - 20°C. Serão transportados para o laboratório do CIMICRON/UFPB, em caixas de isopor com gelo para análise de retinol sérico.

### **5.3 - Processamento e análise**

#### **Retinol sérico**

O retinol sérico será dosado, obedecendo ao método estabelecido por Furr e colaboradores (1992). Após o descongelamento, serão pipetados 100µL de soro de cada amostra e colocados em tubos cônicos de vidro, identificados, e adicionados 100µL de etanol absoluto (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), para promover a precipitação das proteínas, e 200µL de hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), responsável pela extração do retinol. Em seguida, as amostras serão agitadas por 30 segundos, no agitador de tubos, em velocidade contínua, e centrifugados, à velocidade de 3000 rpm, durante 5 minutos.

Posteriormente, serão extraídos 100µL do sobrenadante, colocados em tubos de vidro pequeno e evaporados com nitrogênio, por aproximadamente 1 minuto. O resíduo da amostra será redissolvido com 50µL de metanol e deste, retirados 20µL para leitura.

Os níveis séricos de vitamina A serão determinados pelo método cromatográfico, utilizando-se a Cromatografia Líquida de Alta Resolução (High Pressure Liquid Chromatography - HPLC).

#### **Hemoglobina - Hb**

Para a determinação das concentrações de hemoglobina, será utilizado, aproximadamente, 1 ml de sangue (tubo á vácuo) utilizando como anticoagulante, o ácido etileno diamino tetracético (EDTA).

As amostras serão encaminhadas ao Laboratório do IMIP, para realização das análises em contador eletrônico de células (Sismex SF 3000 Automated hematology Analyser, GMI, Inc. Ramsey, MN,USA)

### **5.4 – Consumo alimentar**

#### **Puérperas**

Registrar ou descrever a ingestão dos alimentos utilizados pela puérpera com base em uma lista por grupos de alimentos e sua frequência de consumo por dia/semana/mês e a quantidade ingerida. Trata-se de uma estimativa de consumo cujas porções são referidas

mediante o uso de medidas caseiras. É o método chamado de questionário de frequência alimentar semiquantitativo.

Para análise do consumo alimentar será utilizado o Programa DIETSYS. Quanto às dúvidas no relato das preparações/porções dos alimentos, utilizar o álbum de fotografia. Especificar, em cada grupo, os alimentos. P.ex. arroz se é integral ou polido.

#### CUIDADOS NA COLETA DE INFORMAÇÕES:

- Evitar qualquer sinal de surpresa, aprovação ou desaprovação do padrão alimentar do entrevistado;
- Não induzir as respostas, principalmente na forma de que os alimentos são preparados;
- Não esquecer de mencionar bebidas alcoólicas, bala/bombom, pipoca, sorvete, café, suplementos vitamínicos e consumo de alimentos à noite;
- Verificar se o consumo não é atípico, ou seja, o entrevistado normalmente não consome.

O preenchimento do questionário de frequência de consumo alimentar deverá ser feito associado a apresentação do álbum de fotografia para estimativa do consumo. O consumo deverá ser preenchido conforme orientação a seguir:

**N** = nunca comeu

1 = 1 vez ; 2 = 2 vezes; 3 = 3 vezes; 4 = 4 vezes; 5 = 5 vezes ... 10 = 10 vezes

**D** = por dia

**S** = por semana

**M** = por mês

**A** = por ano

**P** = pequena

**M** = média

**G** = grande

#### Crianças

Descrever a quantidade dos alimentos e de água ingerida pela criança. Nas preparações especificar também os alimentos e a quantidade utilizada para cada preparação. Além disso, será anotado a idade em que a criança iniciou cada novo alimento.

## 6. FORMULÁRIOS

### 6.1 - Formulário – Triagem

Após aceitação para fazer parte da pesquisa, o prontuário da gestante terá um carimbo de identificação como pertencente à pesquisa. Os dados referentes ao endereço, ponto de referência e telefone para contato devem ser checados em todos os momentos de encontro com a paciente.

Checar a coleta de sangue mãe/filho BIMESTRAL

#### 6.1.1 – Dados pessoais

**Número do formulário:** este campo será preenchido previamente.

**Número do prontuário:** refere-se ao número do registro da paciente no hospital

**Nome do entrevistador:** Escrever o nome de forma legível (letra de forma).

**Data da entrevista:** anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano.

**Nome da mãe:** escrever o nome completo da gestante participante da pesquisa.

**Endereço:** registrar o endereço completo da residência do entrevistado.

**Bairro:** bairros da cidade do Recife ou região metropolitana.

**Ponto de referência:** ponto comercial, igreja ou outro.

**Telefone para contato:** anotar um telefone residencial, ou celular, ou para recado.

**Data de nascimento da mãe:** Colocar dia, mês e ano com 04 dígitos. Ex: 24/03/1973. Pedir ao entrevistado para ver o registro de nascimento, ou carteira de identidade, ou qualquer outro documento onde conste a data de nascimento. Na impossibilidade, anotar a informação do entrevistado.

**Número de gestações:** quantas vezes a gestante engravidou, contando com a atual

**Número de abortos:** quantas vezes a gestante abortou (natural e/ou provocado)

**Data do último parto:** data em que a gestante teve seu último filho antes da gestação atual.

**Intervalo intergestacional:** calcular posteriormente.

**DUM:** anotar a data do 1 dia da última menstruação

**Idade gestacional:** quantas semanas de gestação (confirmar com a enfermeira do pré-natal).

**Nº de consultas pré-natal:** anotar o número de vezes que a gestante compareceu às consultas de pré-natal. Conferir cartão da gestante.

### 6.1.2 - Avaliação socioeconômica

**Número de pessoas no domicílio:** anotar quantas pessoas moram efetivamente na casa, sem contar com empregados (mesmo que o empregado durma na casa)

**Renda Familiar:** perguntar quantas pessoas da família recebem salário e qual o valor individual percebido. Somar esses valores para chegar à renda total e anotar.

**Renda per capita:** dividir o número de pessoas no domicílio pela renda familiar (será calculado posteriormente).

**Escolaridade da mãe:** último ano cursado com aprovação, anotando série e grau.

### 6.1.3 - Hábitos comportamentais

#### **Hábito de fumar:**

Assinalar com X a opção “Sim”, se a gestante fuma atualmente. **Frequência:** quantas vezes por dia (colocar apenas o número de cigarros) e **idade em que começou.**

Assinalar a opção “Não”, se ela não fuma, e a partir daí marcar com X se a **mesma nunca fumou, é ex-fumante ou parou de fumar apenas devido a gravidez.** Perguntar a **idade em que a gestante começou a fumar e a idade que abandonou o cigarro** (caso a gestante não saiba precisar a idade, tente uma aproximação).

#### **Hábito de beber:**

Assinalar com X a opção “Sim”, se a gestante bebe atualmente. **Frequência:** quantas vezes por semana e **idade em que começou.**

Assinalar a opção “Não”, se ela não bebe, e a partir daí marcar com X se a **mesma nunca bebeu, bebia antes ou parou de beber apenas devido a gravidez.** Perguntar a **idade em que a gestante começou a beber e a idade que abandonou a bebida** (caso a gestante não saiba precisar a idade, tente uma aproximação).

#### **Uso de drogas ilícitas:**

Assinalar com X a opção “Sim”, se a gestante se droga atualmente. Caso a gestante use drogas ela é excluída da pesquisa e deverá ser comunicado a enfermeira do pré-natal para que a mesma conduza a gestante ao pré-natal de alto-risco.

Assinalar com X a opção “Não”, se a gestante nunca se drogou. Caso a gestante diga que já se drogou alguma vez, perguntar: se ex-usuária, se foi devido a gravidez, a idade que começou e a idade que abandonou (caso a gestante não saiba precisar a idade, tente uma aproximação).

## 6.2 - Formulário do PPP/COB

No PPP/COB, o número do formulário e o nome da mãe já estarão preenchidos.

**Número do prontuário:** refere-se ao número do registro da paciente no hospital

**Nome do entrevistador:** Escrever o nome de forma legível (letra de forma).

**Data do parto:** anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano em que a paciente pariu.

**Tipo do parto:** anotar se o parto foi vaginal ou cesária

**Sexo da criança:** masculino (M) ou feminino (F)

**Peso ao nascer, comprimento, circunferência craniana e Apgar no primeiro e segundo minutos** devem ser descritos conforme anotação do neonatologista na sala de parto (consulta de prontuário).

Oferecer a cápsulas de vitamina A no pós-parto imediato (ainda na sala de parto) e anotar no formulário.

Coletar sangue do cordão umbilical, conforme descrito anteriormente e anotar no formulário.

## 6.3 - Formulário do Egresso/Primeira Consulta de Puericultura (8 dias)

Anotar o grupo que a puérpera/criança pertence, o número do formulário, o nome da mãe, o nome e o sexo da criança já estarão preenchidos.

**Número do prontuário:** refere-se ao número do registro da paciente no hospital

**Nome do entrevistador:** Escrever o nome de forma legível (letra de forma).

**Data da entrevista:** anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano em que a paciente encontrava-se na puericultura.

**Número do cartão da criança:** número do cartão que a criança irá receber neste momento.

Coletar o colostro e anotar no formulário.

Anotar o peso, que deverá atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A TOMADA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS** descritas anteriormente (medidas realizadas pela enfermeira da puericultura e transcritas para o formulário pelo auxiliar de pesquisa).

**Aleitamento materno:** assinalar com X se sim ou não. Na resposta Sim, perguntar se o aleitamento é exclusivo (apenas leite materno – não entra água nem chá), caso não seja exclusivo, assinalar com X no parcial e questionar quais os alimentos introduzidos, quantas vezes e qual o volume.

Administrar a 2º cápsula a mãe e anotar no formulário.

Agendar a próxima consulta da criança na puericultura com data e hora, conforme agendamento da enfermeira do setor (com 1 mês de vida do bebê).

#### **6.4 - Formulário da Consulta de Puericultura (1º -3º e 5º mês de vida)**

Serão dados relativos a coleta da antropometria da mãe e criança e da morbidade da criança.

O grupo que a puérpera pertence, o número do formulário, o nome da mãe, o nome e o sexo da criança já estarão preenchidos.

**Número do prontuário:** refere-se ao número do registro da paciente no hospital

**Nome do entrevistador:** Escrever o nome de forma legível (letra de forma).

**Data da entrevista:** anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano em que a paciente encontrava-se na puericultura.

**Número do cartão da criança:** número do cartão que a criança irá receber neste momento.

O peso, altura e circunferência craniana, deverão atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A TOMADA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS** descritas anteriormente (medidas realizadas pela enfermeira da puericultura e transcritas para o formulário pelo auxiliar de pesquisa).

**Aleitamento materno:** assinalar com X se sim ou não. Na resposta Sim, perguntar se o aleitamento é exclusivo (apenas leite materno – não entra água nem chá), caso não seja exclusivo, assinalar com X no parcial e questionar quais os alimentos introduzidos, quantas vezes e qual o volume.

### 6.5 - Formulário consulta Puericultura (2° - 4° e 6° mês)

Os dados coletados serão referentes a antropometria, dados bioquímicos da mãe e da criança, morbidade da criança e a coleta do leite materno. O grupo que a puérpera/criança pertence, o número do formulário, o nome da mãe, o nome e o sexo da criança já estarão preenchidos.

**Número do prontuário:** refere-se ao número do registro da paciente no hospital

**Nome do entrevistador:** Escrever o nome de forma legível (letra de forma).

**Data da entrevista:** anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano da realização da terceira consulta da puericultura.

**Número do cartão da criança:** número do cartão que a criança irá receber neste momento.

O peso, comprimento e circunferência craniana da criança, devem atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A TOMADA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS** descritas anteriormente (medidas realizadas pela enfermeira da puericultura e transcritas para o formulário pelo auxiliar de pesquisa).

O peso, altura e circunferência do braço da mãe, devem atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A TOMADA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS** descritas anteriormente (medidas realizadas e transcritas por auxiliar de pesquisa).

Coletar sangue materno, sangue do recém nascido e leite materno (Banco de Leite), devem atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A COLETA DE SANGUE** e anotar no formulário.

**Aleitamento materno:** assinalar com X se sim ou não. Na resposta Sim, perguntar se o aleitamento é exclusivo (apenas leite materno – não entra água nem chá), caso não seja exclusivo, assinalar com X no parcial e questionar quais os alimentos introduzidos, quantas vezes e qual o volume.

### 6.6 – Consumo alimentar

Serão aplicados o Questionário de Frequência Alimentar semi-Quantitativo (QFA). No QFA as perguntas serão feitas referente aos 6 meses de amamentação sobre o consumo de alimentos fonte de vitamina A.



**APÊNDICE C****FORMULÁRIO 01 - TRIAGEM**

1.Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

2. Número do questionário \_\_\_\_\_

3. Número do prontuário \_\_\_\_\_

Nome da paciente: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_

Ponto de referência: \_\_\_\_\_ Fone:( ) \_\_\_\_\_

4.Idade (anos): \_\_\_\_\_ Data do nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

5.Nº gestações (incluindo a atual): \_\_\_\_\_ 6. Nº abortos: \_\_\_\_\_

Data último parto/aborto: \_\_\_\_\_

DUM \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

7. Intervalo intergestacional: \_\_\_\_ (anos)

8. Idade gestacional \_\_\_\_\_

9. Número de consultas: \_\_\_\_\_

10. Nº de pessoas no domicílio: \_\_\_\_\_

11. Renda familiar R\$ \_\_\_\_\_

12. Renda per capita \_\_\_\_\_

13. Escolaridade: (último ano cursado com aprovação) Série \_\_\_\_ Grau \_\_\_\_\_

14. Peso1: \_\_\_\_\_ 15. Peso2: \_\_\_\_\_

16. Altura1: \_\_\_\_\_ 17. Altura2: \_\_\_\_\_

18. Circunferência do braço1: \_\_\_\_\_ 19. Circunferência do braço2: \_\_\_\_\_

Foi coletado: Sangue materno? Sim  Não 

HB: \_\_\_\_\_ Retinol sérico: \_\_\_\_\_

Nome entrevistador: \_\_\_\_\_

**APÊNDICE D****FORMULÁRIO 02 - PPP/ COB**

Data do parto: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Número do questionário \_\_\_\_\_

Número do prontuário \_\_\_\_\_

Nome da paciente: \_\_\_\_\_

Tipo de parto:

1.Normal	<input type="checkbox"/>	2.Cesárea	<input type="checkbox"/>
----------	--------------------------	-----------	--------------------------

Sexo da criança:

1.M	<input type="checkbox"/>	2.F	<input type="checkbox"/>
-----	--------------------------	-----	--------------------------

Peso ao nascer: \_\_\_\_\_

Comprimento: \_\_\_\_\_

Circunferência craniana: \_\_\_\_\_

Apgar (1)' \_\_\_\_\_

Apgar (5)' \_\_\_\_\_

A mãe recebeu a cápsula de vitamina A no pós-parto imediato?

1. Sim	<input type="checkbox"/>	2. Não	<input type="checkbox"/>
--------	--------------------------	--------	--------------------------

Coletado Sangue do cordão umbilical?

1. Sim	<input type="checkbox"/>	2. Não	<input type="checkbox"/>
--------	--------------------------	--------	--------------------------

Nomeentrevistador: \_\_\_\_\_

**Exames do Recém-nascido****30. Hb:****31. Retinol:**

**APÊNDICE E****FORMULÁRIO 03 – PRIMEIRA CONSULTA DE PUERICULTURA (8 DIAS)**

## GRUPO

1. A  2. B 

Data: \_\_\_\_\_

Número do questionário \_\_\_\_\_

Número do prontuário \_\_\_\_\_

Nome da mãe: \_\_\_\_\_

Nome da criança: \_\_\_\_\_

Peso 1 da criança: \_\_\_\_\_ Peso 2 da criança: \_\_\_\_\_

De que seu bebê está se alimentando?

1. leite materno (exclusivo) 2. leite materno + outros alimentos (parcial) 3. Apenas outros alimentos (não mama mais) 

. Situação vacinal atualizada

1. Sim  2. Não 

A mãe recebeu a segunda cápsula?

1. Sim  2. Não 

Agendamento da próxima consulta: Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Hora: \_\_\_:\_\_\_

Nome entrevistador: \_\_\_\_\_

**APÊNDICE F****FORMULÁRIO 04 –CONSULTA DE PUERICULTURA (1, 2 ,3 ,4, 5 e 6 MESES)**GRUPO  A  B

Data: \_\_\_\_\_

Número do questionário \_\_\_\_\_

Número do prontuário \_\_\_\_\_

Nome da mãe: \_\_\_\_\_

Nome da criança: \_\_\_\_\_

De que seu bebê está se alimentando?

1. leite materno (exclusivo) 2. leite materno + outros alimentos ( parcial) 3. Apenas outros alimentos (não mama mais) 

Situação vacinal atualizada

1. Sim  2. Não 

Agendamento da próxima consulta: Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Hora: \_\_\_\_:\_\_\_\_

Nome entrevistador: \_\_\_\_\_

## APENDICE G

Hindawi Publishing Corporation  
Journal of Nutrition and Metabolism  
Volume 2013, Article ID 876308, 8 pages  
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/876308>

### Clinical Study

## The Effect of a Maternal Double Megadose of Vitamin A Supplement on Serum Levels of Retinol in Children Aged under Six Months

Carmina Silva dos Santos,<sup>1</sup> Ilma Kruze,<sup>1</sup> Taclana Fernandes,<sup>1</sup> Luclana Marques Andreto,<sup>2</sup> José Natal Figueiroa,<sup>2</sup> and Alcides da Silva Diniz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil

<sup>2</sup> Departamento de Pesquisa, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), 50070-550 Recife, PE, Brazil

Correspondence should be addressed to Carmina Silva dos Santos; carminassantos@gmail.com

Received 29 January 2013; Revised 19 August 2013; Accepted 3 September 2013

Academic Editor: Tai C. Chen

Copyright © 2013 Carmina Silva dos Santos et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Objective.** To measure concentrations of serum retinol in children after the use of maternal vitamin A double megadose supplements. **Design.** Randomized controlled clinical trial. **Setting.** The study was conducted at two maternity hospitals in the city of Recife, in the northeast region of Brazil between August 2007 and June 2009. **Subjects and Methods.** 276 children/mothers were recruited after birth and the women received a 200,000 IU capsule of vitamin A. After ten days they were randomly assigned to two treatment groups. One group received a second 200,000 IU capsule, while the other received a placebo. The concentrations of retinol in the serum of the children from each group were measured at 2, 4, and 6 months. **Results.** 173 children completed the study. There was no difference between the two treatment groups ( $P = 0.514$ ). The mean base retinol level was lower than that at four and six months ( $P < 0.001$ ). **Conclusions.** The maternal double megadose supplement had no additional effect on the serum retinol levels of the children, although concentrations of retinol in the children rose in the first six months of life. This trial is registered with NCT00742937.

### 1. Introduction

Vitamin A deficiency (VAD) is considered to be a serious problem in more than seventy countries, and, according to the World Health Organization (WHO), around 2.8 million children of preschool age are clinically affected by the condition [1]. Deficiency may therefore lead to repercussions, such as poor night vision, if the deficiency is mild, which may develop into irreversible blindness, as well as stunting the growth of the child and diminishing resistance to infection [2, 3].

It is known that breastfeeding infants aged under six months are considered a group at risk of vitamin A deficiency. This is due to the fact the reserves of vitamin A in the liver of the breastfeeding child are very limited at birth. This occurs for the following reasons: a tendency for levels of serum retinol to be lower in pregnant women and the existence of

a selective placental barrier, which blocks the passage of this vitamin to the fetus [4].

Hence, the use of a megadose of vitamin A for children aged between 6 and 59 months in areas at risk of vitamin A deficiency is one of the main short-term interventions for combating this deficiency in the field of public health. The use of vitamin A supplements in these areas helps to reduce mortality in children aged under five years by 30% and can diminish the severity of diarrheal diseases [5, 6]. Breastfeeding thus provides great protection for children aged up to two years, which is the age during which they are most at risk of damage [7].

The vitamin A content in human milk is variable and influenced by several factors such as age, parity, and socio-economic status of the mother, postpartum age, volume, and fat content of the milk. The concentration of vitamin A

in the colostrum is high (>331 IU/dL or >99 mcg/dL) and decreases gradually in the first months of lactation, whereas mature milk concentration ranges from 110 to 257 IU/dL (33 to 77 mcg/dL) [7].

Strategies for improving the vitamin A status of breastfeeding infants and children of school age have been proposed, given that breastfeeding is the best way to protect children up to two years of age. In 2002, the International Vitamin A Consultative Group (IVACG) recommended the use of higher doses of vitamin A (400,000 IU) during the immediate postpartum period as a safer way of preventing vitamin A deficiency during breastfeeding, although current evidence is insufficient to back up this proposal [8].

Thus, this study aims to measure the concentrations of serum retinol after two, four, and six months in children of mothers who received a double megadose of vitamin A during postpartum and to assess the protective effect of this vitamin A supplement in terms of maintaining adequate serum levels of retinol in breastfeeding children.

## 2. Methods

**2.1. Design and Study Setting.** A controlled triple-blind randomized clinical hospital-based trial was carried out with women and their progeny attending the Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) and Bandeira Filho maternity hospitals between August 2007 and June 2009.

**2.2. Sample Size.** The sample size was calculated using the formula:  $N = (u + v)^2 (d\mu_1^2 + d\mu_2^2) / (\mu_1 - \mu_2)^2$  [9] supposing error  $\alpha = 5\%$  ( $u$ ), error  $\beta = 20\%$  ( $v$ ), a standard deviation of the distribution of concentrations of serum retinol, in the two groups ( $d\mu_1$  and  $d\mu_2$ ) of  $0.5 \mu\text{mol/L}$ , and a difference between the mean retinol levels between the groups ( $\mu_1 - \mu_2$ )<sup>2</sup> of  $0.25 \mu\text{mol/L}$ , giving a minimum sample size for each group of 73 children. So as to cover for any losses, a sample of 146 was taken for each group.

**2.3. Study Population.** The study sample comprised 293 newborns from women with a low obstetric risk pregnancy admitted to the IMIP and Bandeira Filho maternity, in the municipality of Recife, who agreed to participate by signing a Term of Free and Informed Consent. Newborns were excluded if their mothers had psychiatric disorders, if they had severe perinatal hypoxia (apgar < 4 in the 1st and 5th minutes of life), or if they had malformations and/or other serious illnesses that are known to be able to affect susceptibility to infectious diseases or growth, to make it difficult to measure weight and height, or to prevent breastfeeding (malabsorption syndromes, metabolic syndromes, cardiopathy, and cleft palate).

**Selection/Randomization and Followup of Participants.** The women were selected when they were admitted to hospital for the birth, on which occasion they were informed of the aims of the research and responded to a structured questionnaire, to collect sociodemographic, clinical, biochemical, anthropometric, and nutritional data.

Shortly after birth, blood was collected from the umbilical cord, weight, height, and the circumference of the head were measured, and each mother received a 200,000 IU vitamin A capsule (Farmanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), according to the protocol recommended by the Brazilian Ministry of Health.

Unable to deploy one control group without administration of the first capsule of vitamin A, because according to the supplementation program of the Ministry of Health of Brazil capsule of vitamin A is provided to all postpartum women in public hospitals.

The 10th day after-partum, during the consultation, the individual randomization was carried out by the pediatric nurse, using a table of random numbers generated by the EPI INFO program Version 6.04d (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA). The children and their mothers were randomly assigned to two groups (group 1 and group 2): in group 1, the mothers received a second vitamin A capsule (200,000 IU) making a total of 400,000 IU, and, in group 2, the mothers received a placebo capsule, making a total of 200,000 IU of vitamin A. The randomization codes were kept secret during the whole study and were revealed only after the conclusion of data analysis.

On the three days following receipt of the supplement, all the women and children were monitored for side effects arising from the toxicity of vitamin A, when administered in high doses. Nothing was mentioned to the mothers that could be related to these side effects in order to avoid suggestibility to some of the symptoms under study.

The flowchart for selection, randomization, and followup/losses of participants is shown in Figure 1.

### 2.4. Details of the Groups

Group 1: the mother received a 200,000 IU capsule (retinyl palmitate) +40 mg of vitamin E, administered orally, and shortly after birth and 10 days after-partum, a second 200,000 IU capsule (retinyl palmitate) +40 mg of vitamin E was administered.

Group 2: the mother received a 200,000 IU capsule (retinyl palmitate) +40 mg of vitamin E, administered orally, and shortly after birth and 10 days after-partum, a second "placebo" capsule containing 40 mg of vitamin E dissolved in soya oil.

The vitamin A and placebo capsules were prepared in such a way as to be identical in size, shape, color, and taste by Rethy Laboratórios (Indubatuba, SP, Brasil). All the capsules contained vitamin E, both to avoid possible toxic side effects of high doses of vitamin A and to give the capsule more stability.

**2.5. Methods and Measurement Techniques.** In children, all blood samples were taken at the same time of day, between 8 and 10 am, by a duly trained technician. At the consultations in the 2nd and 4th month after-partum, 3 mL of blood was collected by venocubital puncture, and at the consultation in the 6th month, a further 2 mL was collected for the hemogram.

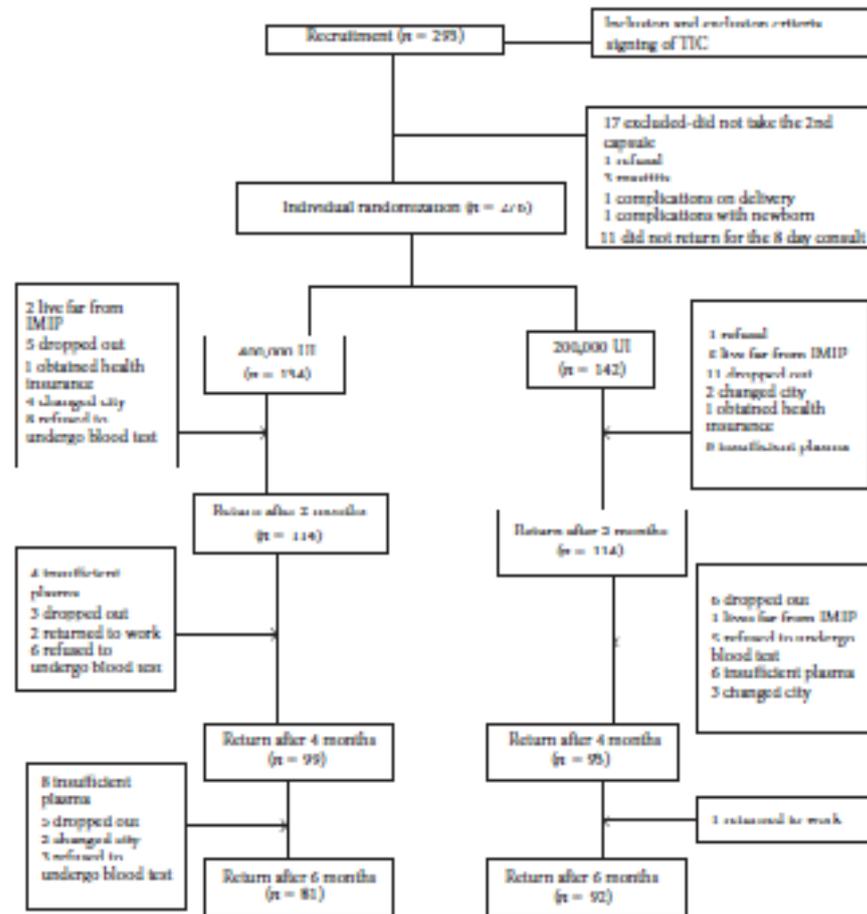


FIGURE 1: Flowchart of followup.

The aliquots used for analysis of concentrations of serum retinol were placed in tubes protected from the light and the 2 mL aliquots for analysis of hemoglobin were placed in a tube containing the anticoagulant ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA).

In the case of the analysis of concentrations of serum retinol, one hour after decanting, the samples were spun in a centrifuge at 3000 rpm for 10 minutes, and the serum was separated and placed in Eppendorf tubes, stored in a freezer at  $-20^{\circ}\text{C}$ , and then transported to the Centro de Investigação em Micronutrientes (CIMICRON) of the Universidade Federal da Paraíba (UFPB), in a cooler. The concentrations of serum retinol were analyzed using high resolution liquid chromatography (HPLC, model 300, Gilson,

France), according to the technique established by Tanumihardjo et al. [10]. The cut-off point adopted for identification of serum retinol deficiency was  $<0.70 \mu\text{mol/L}$  [11].

The socioeconomic variables and the nutritional habits of the mother and child were obtained during an interview at the hospital. Information on per capita family income was expressed in terms of minimum wages (MW) and divided into three groups:  $<1/4 \text{ MW}$  ( $<\text{US}\$ 62.2$ ),  $1/4 \text{ | } -1/2 \text{ MW}$  ( $\text{US}\$ 62.2\text{--}124.4$ ), and  $>1/2 \text{ MW}$  ( $>\text{US}\$ 124.4$ ) (1 MW = US\$ 248.8).

The level of schooling of the mother was expressed in terms of years of schooling and divided into the following categories:  $<8$  years,  $8 \text{ | } -11$  years and  $>11$  years. Sanitation was considered to be adequate when there was a connection

to the local sewerage network, regular trash collection, and water available from the public network through indoor piping and inadequate when one of these was absent.

The mother's vitamin A intake was assessed using the previously validated Quantitative Nutrition Frequency questionnaire, adapted for the foodstuffs common in the region. This questionnaire was applied with the help of colored photos of utensils and food [12, 13] in order to obtain greater precision as to the quantities ingested. This questionnaire was administered at the end of the trial and its takes into consideration the food consumption referring to the intake of different types of food in previously defined small, medium, or large portions, eaten daily, weekly, or monthly. The questionnaire measures food intake according to portions (small, medium, or large) per week, per day, or per month. The diets were analyzed using the DietSys program Version 4.01 (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) which is based on the Table of the Chemical Composition of Foodstuffs drawn up by the US Department of Agriculture (USDA), and there were no mothers with inadequate intake of vitamin A.

Child nutrition was classified according to the categories recommended by the WHO as follows: exclusive maternal breastfeeding: children who exclusively drink their mother's milk, except for the use of medication and mineral and vitamin supplements; maternal breastfeeding: children who drink mother's milk, cow's milk, and other food. The measurement of weight and height was carried out in duplicate by research assistants with prior training by the research team and the measurements for every fifth child were taken again by one of the researchers as a way of ensuring intra- and interobserver reliability, as recommended by Frisancho [14]. Weight was measured using Fillizola, E-150/3P model microelectronic scales and height using a wooden ruler. An error of 100 g and 0.1 cm, respectively, was accepted for weight and height [15]. Anthro software Version 2 was used to calculate and analyze the anthropometric data.

**2.6. Statistical Analysis.** The data were entered in duplicate and confirmed using the "Validate" module of the Epi-info statistics package, Version 6.04 d (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), to check consistency and provide validation. Statistical analysis was carried out using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows, Version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and STATA (Statacorp, College Station, TX, USA).

The variables that presented a normal distribution after application of the KOLMOGOROV-SMIRNOV test were described in terms of mean and standard deviation. The only variable to present a nonnormal distribution was nutrition and this was described in terms of median and interquartile range. For comparison of the means for the two groups, Student's *t*-test was used for nonpaired data and for comparison of the proportions, Pearson's chi-squared and Fisher's exact tests were employed. Analysis of variation in retinol by time and dosage was adjusted for linear regression models using the generalized estimation equations (GEE) technique, which adjusts the estimates of the parameters and their standard errors, taking into consideration the possible correlation

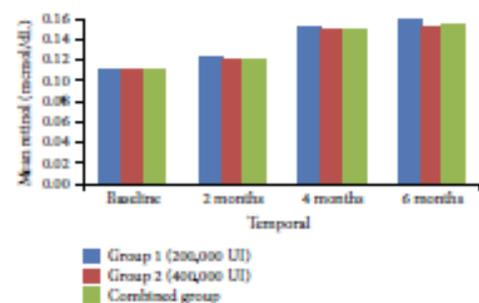


FIGURE 2: Mean retinol, by treatment group and duration of follow-up.

of the repeated measures. To avoid bias in estimating the temporal variation of retinol after treatment, a variable indicating the base measurements was introduced into the regression models.

### 3. Results

The random distribution resulted in a homogeneous sample both in terms of the characteristics of the mothers and the children (Table 1). Most were found to have an income of more than half one minimum wage, their homes had adequate sanitation and most were young adults with more than eight years of schooling.

Of the 293 children recruited for the study, 173 completed the protocol. The dropout rate was around 38%, although these losses did not affect the characteristics of the groups of remaining individuals ( $P = 0.08$ ) (Tables 2 and 3).

The feeding pattern was similar in the two supplement groups throughout the follow-up period. (Table 4).

The adjustment to the linear regression model using the GEE technique suggested that the serum concentrations of retinol were similar in the two supplement groups throughout the six-month follow-up period ( $P = 0.514$ ). There was no significant interaction between the treatment group and the time of followup ( $P = 0.693$ ) (Table 5).

There was no statistically significant difference between the two groups in terms of mean serum retinol at the baseline and after two months ( $P = 0.484$ ) and the same was true for the fourth and sixth months ( $P = 0.421$ ). The mean retinol levels at the baseline were significantly lower than the mean after four months ( $P < 0.001$ ) and after six months ( $P < 0.001$ ). The mean levels of retinol after two months were significantly lower than the mean after four months ( $P < 0.001$ ) (Table 6).

Figure 2 shows that serum concentrations of retinol were similar in the treatment group and the combined group.

### 4. Discussion

Few studies have evaluated the use of vitamin A supplements by mothers, either in a megadose [16–18] or in higher doses

TABLE 1: Baseline characteristics of mothers and children, Recife, Brazil, 2008-2009.

Characteristics	400,000 IU vitamin A			200,000 IU vitamin A			P <sup>a</sup>
	n	Mean	SD	n	Mean	SD	
<b>Children</b>							
Male [n(%)]	134	65	(48.5)	142	5568	(479)	0.69 <sup>f</sup>
Weight at birth (g)	134	3344.0	405.3	142	3283.0	373.1	0.24
Length (cm)	134	48.9	2.0	142	48.9	1.8	0.86
Circumference of cranium (cm)	133	34.5	1.7	141	34.6	2.1	0.70
Serum retinol ( $\mu\text{mol/L}$ )	26	1.09	0.5	27	1.11	0.5	0.93
Breastfeeding <sup>b</sup> [n (%)]	115	94	(81.7)	109	77	(70.6)	0.07
<b>Mothers</b>							
Age (years)	134	24.3	5.6	142	24.9	6.8	0.48
Schooling (years)	134	8.8	2.9	142	8.8	2.5	0.86
Per capita income ( $\text{\$}^c$ )	130	89.4	63.3	132	83.6	42.7	0.38
Adequate sanitation [n (%)] <sup>d</sup>	127	28	(56.0)	123	22	(44.0)	0.42 <sup>f</sup>
Vitamin A intake <sup>e</sup> ( $\mu\text{g}$ ) [Med; IQ <sup>††</sup> ]	69	1090.4	817.7-1648.5	72	1164.7	841.0-1748.7	0.76 <sup>g</sup>
Serum retinol ( $\mu\text{mol/L}$ )	106	1.6	0.7	106	1.7	0.8	0.55

<sup>a</sup>Student's *t*-test for unpaired data; <sup>b</sup>chi-squared test; <sup>c</sup>Mann-Whitney *U*-test; <sup>d</sup>maternal breastfeeding in the 6th month of life; <sup>e</sup> $\text{\$}$ : US dollars; <sup>f</sup>inadequate sanitation: household without one or more of the following characteristics: indoor piped water, regular trash collection, and link to the sewerage network; <sup>g</sup>vitamin A intake in  $\mu\text{g}$  of retinol; <sup>††</sup>IQ: interquartile range.

TABLE 2: Distribution of children dropping out by supplement group, Recife, PE, 2007/09.

Supplement group	Study		Dropout rate		Total		P <sup>a</sup>
	n	%	n	%	N	%	
400,000 IU vitamin A	115	85.8	19	14.2	134	100.0	0.08
200,000 IU vitamin A	109	76.8	33	23.2	142	100.0	

<sup>a</sup> $\chi^2$ -test *P* = 0.08.

TABLE 3: Comparison of characteristics of mothers and children followed up by the study with those who dropped out, Recife, PE, 2007/09.

Characteristics	Study		Drop outs		P <sup>a</sup>
	n	Mean $\pm$ SD	n	Mean $\pm$ SD	
<b>Mothers</b>					
Age (years)	224	24.6 $\pm$ 6.2	52	23.6 $\pm$ 5.5	0.22
Schooling (years)	224	8.8 $\pm$ 2.7	52	8.4 $\pm$ 2.4	0.27
Per capita income (R $\text{\$}$ )	222	145.3 $\pm$ 97.2	49	133.8 $\pm$ 69.0	0.37
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	176	28.5 $\pm$ 4.4	29	27.2 $\pm$ 4.6	0.08
<b>Children</b>					
Birth weight (g)	224	3313.0 $\pm$ 390.0	52	3283.0 $\pm$ 415.4	0.57
Males [n (%)]	224	107 (47.8)	52	26 (50.0)	0.38
Adequate sanitation [n (%)]	221	171 (77.5)	30	25 (83.3)	0.32

<sup>a</sup>Student's *t*-test for unpaired data.

[9, 19-23], and the serum concentrations in children at various points during a follow-up period.

Our data show that over time there was no significant interaction between the treatment groups and no difference was found between the groups receiving a supplement of 400,000 IU and those receiving a dose of 200,000 IU. The expected increase after taking a higher dose of supplement may fail to appear in serum levels, since these do not necessarily reflect the liver reserves of this vitamin, and it is known that there is a serum retinol limit as an absolute

measure to establish the vitamin A status of an individual, given that these levels are controlled homeostatically and their concentrations should be altered at times when liver reserves are low or in situations compatible with vitamin A deficiency A.

Our findings are backed up by studies carried out in Tanzania [22] which used high doses of vitamin A supplements and found no difference between the treatment groups so far as serum concentrations of this micronutrient are concerned. However, Ayah et al. [23] have noted that supplements in a

TABLE 4: Distribution of maternal breastfeeding in children after six months by supplement group, Recife, 2008-2009.

Type of feeding	400,000 IU vitamin A		200,000 IU vitamin A		P*
	n	%	n	%	
2 months					
Exclusive maternal breastfeeding	70	52.24	64	47.76	0.48
Maternal breastfeeding	38	46.34	44	53.66	
4 months					
Exclusive maternal breastfeeding	50	54.35	42	45.65	0.76
Maternal breastfeeding	52	57.14	39	42.86	
6 months					
Exclusive maternal breastfeeding	20	21.7	23	29.1	0.29
Maternal breastfeeding	72	78.3	56	70.9	
Total	92	100	79	100	

\*Chi-squared test.

TABLE 5: Distribution of means for retinol by duration of followup and supplement group, Recife, 2008/2009.

Vitamin A group	Baseline mean $\pm$ SD (n) ( $\mu\text{mol/L}$ )	Time		
		Two months mean $\pm$ DP (n) ( $\mu\text{mol/L}$ )	Four months mean $\pm$ DP (n) ( $\mu\text{mol/L}$ )	Six months mean $\pm$ DP (n) ( $\mu\text{mol/L}$ )
200,000 IU	1.09 $\pm$ 0.50 (25)	1.22 $\pm$ 0.66 (114)	1.51 $\pm$ 0.67 (99)	1.57 $\pm$ 0.60 (88)
400,000 IU	1.11 $\pm$ 0.55 (28)	1.18 $\pm$ 0.57 (114)	1.48 $\pm$ 0.55 (93)	1.51 $\pm$ 0.53 (92)
Combined group	1.10 $\pm$ 0.52 (53)	1.20 $\pm$ 0.62 (228)	1.50 $\pm$ 0.61 (192)	1.54 $\pm$ 0.56 (173)

TABLE 6: Estimated<sup>a</sup> mean serum retinol in combined group, during followup, Recife, 2008/2009.

Combined group	Time			
	Baseline mean (CI <sub>95%</sub> ) ( $\mu\text{mol/L}$ )	2 months mean (CI <sub>95%</sub> ) ( $\mu\text{mol/L}$ )	4 months mean (CI <sub>95%</sub> ) ( $\mu\text{mol/L}$ )	6 months mean (CI <sub>95%</sub> ) ( $\mu\text{mol/L}$ )
Combined group	1.14 (1.00-1.29)	1.20 (1.12-1.28)	1.50 (1.41-1.59)	1.55 (1.46-1.63)

<sup>a</sup>Obtained by adjusting to linear regression model, using the generalized estimation equations (GEE) technique.

double megadose do not appear to have an impact on serum levels, but to increase liver reserves in the children, as was not proved by Idindili et al. in Tanzania [22].

A study conducted in Ghana showed that the 400,000 IU dose of supplement in women probably increased the liver reserves more than the 200,000 IU dose, although the modified relative dose respond (MDRD) test was not capable of showing this. Based on this observation, Tcham et al. proposed the use of the stable isotope method in future research, as a way of improving the quantitative evaluation of concentrations of retinol in the liver, which might show the possible benefits of vitamin A supplements in higher doses [20].

So far as liver reserves are concerned, it was not possible to measure this in the population studied and this may be considered a limitation of this study, which restricted itself to concentrations of vitamin A in serum. However, the concentration of retinol in serum may not be the most appropriate indicator for evaluating the effect of these dosages, although it is the indicator recommended by the WHO and the IVACG for investigation of the organic status of vitamin A.

The data also point to a growing increase in base levels up to the sixth month. One plausible explanation of this would be that the liver reserves of vitamin A at birth are highly limited and this is because of the existence of a selective barrier in the placenta, which controls the passage of this vitamin to the fetus, as a way of preventing possible teratogenic effects [4].

It may be that once effective breastfeeding has been established, it is possible to build up reserves of this micronutrient in the child and it should be pointed out that most breastfed for the first six months of their life, albeit not exclusively, as it should be to ensure that this population has a satisfactory intake of this micronutrient, because there was no significant difference between children who received exclusive breastfeeding and those artificially fed (unpublished data).

This is even more indispensable in the first few days of breastfeeding, since colostrum plays a fundamental role in the initial formation of stocks of vitamin A in the liver of the breastfeeding infant, before serum levels of retinol begin to decline [24].

Another fact that could explain these growing concentrations is the nutritional status of the children studied, who mostly had an age-appropriate BMI and did not have frequent episodes of infection (data not published), with a consequent reduction in deprivation, which may be reflected in their vitamin A status.

Our results may be compared to a study [18] in an Indian population, which showed that when mothers received a single megadose of supplement, there was a statistically significant difference between the concentrations of retinol in the children at the baseline and after five months.

However, this has not been found by other studies which also used a double megadose of vitamin A, although these do not show a retinol curve for children during a follow-up period after receiving the supplement [21–23].

However, we should stress that although our population lives in an area where vitamin A deficiency is endemic, this population has a distinct profile of poverty, although there is not extreme poverty. Likewise the study was not based on the population as a whole and it is therefore difficult to make inferences about other populations.

The importance of the data presented here stems from the fact that there are no studies in the literature that report concentrations of serum retinol at more than two stages in the life of children aged under six months and back the need to maintain the WHO recommended maternal supplements as a fairly effective strategy for combating vitamin A deficiency, in combination with the promotion of breastfeeding, when 60 times more vitamin A is transferred to the child, in view of the fact that the supplement can be administered in a single visit by the mother to the health services, while, for a child, it would require numerous visits.

However, the data presented here should be interpreted with caution. A first attempt would be concern regarding the national "More Vitamin A" program's distribution at six and twelve months, which should perhaps occur at a later stage.

It can be concluded that additional effects were not detected on the serum concentrations of retinol in children after mothers had taken a double megadose of vitamin A supplement during postpartum, contrary to the current recommendations of the WHO, although concentrations of retinol in the children tended to grow in the first six months of life.

### Ethical Issues

The study was submitted to and approved by the Ethics Committee of the IMIP, registration number 720/2006 on January 27, 2006. During the study, the women and the children who were found, on receipt of the results of the hemogram in the sixth month, to be anemic were treated with doses of iron sulfate as recommended by the Brazilian Ministry of Health and were referred to the appropriate health service. No formal rules were established for the interruption of the clinical trial. After six months all the children were referred to vaccination services to receive the vitamin A capsule (100,000 IU) in accordance with the Brazilian Government's Vitamin A Supplement Program.

Neither women who declined to participate nor their children were discriminated against in terms of the health care they received.

### References

- [1] World Health Organization, "The global prevalence of vitamin A deficiency," Micronutrient Deficiency Information System (MDIS), WHO, Geneva, Switzerland, 1995.
- [2] G. Sedgh, M. Gutierrez Herrera, P. Nestel, A. E. Amin, and W. W. Fawzi, "Dietary vitamin A intake and nondietary factors are associated with reversal of stunting in children," *Journal of Nutrition*, vol. 130, no. 10, pp. 2520–2526, 2000.
- [3] R. D. Semba, "The role of vitamin A and related retinoids in immune function," *Nutrition Reviews*, vol. 56, no. 1, pp. S38–S48, 1998.
- [4] P. H. C. Rondo, R. Abbott, L. C. Rodrigues, and A. M. Tomkins, "Vitamin A, folate, and iron concentrations in cord and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 49, no. 6, pp. 391–399, 1995.
- [5] World Health Organization, *Vitamin A Supplementation. Report of An Informal Consultation, 1–3 March 2000 Yverdon-Les-Bains*, WHO, Geneva, Switzerland, 2001.
- [6] M. L. Barreto, L. M. P. Santos, A. M. O. Assis et al., "Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil," *The Lancet*, vol. 344, no. 8917, pp. 228–231, 1994.
- [7] M. C. Martins, Y. P. Oliveira, D. C. Cottinho, and L. M. P. Santos, "Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil," *Revista de Nutrição*, vol. 20, no. 1, pp. 1–5, 2007.
- [8] D. A. Ross, "Recommendations for vitamin A supplementation," *Journal of Nutrition*, vol. 132, supplement 9, pp. 2902–2906, 2002.
- [9] L. C. Malaba, P. J. Iliff, K. J. Nathoo et al., "Effect of postpartum maternal or neonatal vitamin A supplementation on infant mortality among infants born to HIV-negative mothers in Zimbabwe," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 81, no. 2, pp. 454–460, 2005.
- [10] S. A. Tanumihardjo, H. C. Furr, J. W. Erdman Jr., and J. A. Olson, "Use of the modified relative dose response (MRDR) assay in rats and its application to humans for the measurement of vitamin A status," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 44, no. 3, pp. 219–224, 1990.
- [11] WHO, *Using Human-to-Alien Contacts as a Gateway to Eliminating Vitamin A Deficiency*, WHO, Geneva, Switzerland, 1994.
- [12] J. P. Medeiros, K. Pfrimer, M. H. Tremeschin, M. C. Molina, and P. Chitarello, *Nutrição E Metabolismo—Consumo alimentar: Visão geral porções*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil, 1 edition, 2007.
- [13] C. B. Zaboto, R. P. T. Viana, and M. E. Gil, *Registro Fotográfico Para Inquéritos Dietéticos: Utensílios E porções*, NEPA/UNICAMP, Campinas, Brazil, 1996.
- [14] A. R. Frisancho, "Methods and materials," in *The American Journal of Clinical Nutrition*, The University of Michigan Press, 1990, Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status.
- [15] World Health Organization, *Physical Status: The Use And Interpretation of Anthropometry Report of A WHO Expert Committee*, WHO, Geneva, Switzerland, 1995.

- [16] S. K. Roy, A. Islam, A. Molla, S. M. Akramuzzaman, F. Jahan, and G. Fuchs, "Impact of a single megadose of vitamin A at delivery on breastmilk of mothers and morbidity of their infants," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 51, no. 5, pp. 302–307, 1997.
- [17] R. Dimenstein, R. M. Lourenço, and K. D. Ribeiro, "Impacto Da Suplementação Com Retinol Palmítico No Pós-Parto Imediato Sobre Os Níveis De retinol Do colostro," *Rev Panam Salud Publica*, 2007.
- [18] S. Basu, B. Sengupta, and P. K. R. Paladhi, "Single megadose vitamin A supplementation of Indian mothers and morbidity in breastfed young infants," *Postgraduate Medical Journal*, vol. 79, no. 933, pp. 397–402, 2003.
- [19] R. J. Stolzfus, M. Hakimi, K. W. Miller et al., "High dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant," *Journal of Nutrition*, vol. 123, no. 4, pp. 666–675, 1993.
- [20] S. K. Tichum, S. A. Tanumihardjo, S. Newton et al., "Evaluation of vitamin A supplementation regimens in Ghanaian postpartum mothers with the use of the modified-relative-dose-response test," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 84, no. 6, pp. 1344–1349, 2006.
- [21] M. K. Darboe, D. I. Thurnham, G. Morgan et al., "Effectiveness of an early supplementation scheme of high-dose vitamin A versus standard WHO protocol in Gambian mothers and infants: a randomised controlled trial," *The Lancet*, vol. 369, no. 9579, pp. 2088–2096, 2007.
- [22] B. Idindih, H. Masanja, H. Urassa et al., "Randomized controlled safety and efficacy trial of 2 vitamin A supplementation schedules in Tanzanian infants," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 85, no. 5, pp. 1312–1319, 2007.
- [23] R. A. Ayah, D. I. Mwaniki, P. Magnussen et al., "The effects of maternal and infant vitamin A supplementation on vitamin A status: a randomised trial in Kenya," *British Journal of Nutrition*, vol. 98, no. 2, pp. 422–430, 2007.
- [24] D. S. Bezerra, K. F. Araújo, G. M. M. Azevêdo, and R. Dimenstein, "Suplementação materna com retinol palmítico no pós-parto imediato: consumo potencial por lactentes," *Revista de Saúde Pública*, vol. 43, no. 4, pp. 572–579, 2009.

**ANEXOS**

## ANEXO A - NORMAS PARA SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS PARA O JORNAL DE PEDIATRIA

### Instruções para envio de material por e-mail

**1. Enviar para:** [jped@jped.com.br](mailto:jped@jped.com.br)

**2. Assunto:** escrever o título abreviado do artigo

**3. Corpo da mensagem:** deve conter o título do artigo e o nome do autor responsável pelos contatos pré-publicação, seguidos de uma declaração em que os autores asseguram que:

- a)** o artigo é original;
- b)** nunca foi publicado e, caso venha a ser aceito pelo Jornal de Pediatria, não será publicado em outra revista;
- c)** não foi enviado a outra revista e não o será enquanto sua publicação estiver sendo considerada pelo Jornal de Pediatria;
- d)** todos os autores participaram da concepção do trabalho, da análise e interpretação dos dados e de sua redação ou revisão crítica;
- e)** todos os autores leram e aprovaram a versão final;
- f)** não foram omitidas informações sobre quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias ou pessoas que possam ter interesse no material abordado no artigo;
- g)** todas as pessoas que fizeram contribuições substanciais para o artigo, mas não preencheram os critérios de autoria, são citados nos agradecimentos, para o que forneceram autorização por escrito;
- h)** reconhecem que a Sociedade Brasileira de Pediatria passa a ter os direitos autorais, caso o artigo venha a ser publicado. (Obs.: caso o artigo seja aceito para publicação, será solicitado o envio desta declaração com a assinatura de todos os autores.)

**4. Arquivos anexados:** anexar dois arquivos separados, contendo respectivamente: (a) página de rosto, resumo em português (ou inglês, se o artigo for submetido em inglês), palavras-chave, texto e referências bibliográficas, (b) tabelas e figuras. Esses arquivos devem permitir a leitura pelos programas do Microsoft Office® (Word, Excel e Access).

**Dir  
etri  
zes  
par  
a a  
pre  
par  
açã  
o  
do  
ori  
gin  
al**

## Orientações gerais

### Resumo de artigo original

**Objetivo:** informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

**Métodos:** informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho.

**Resultados:** informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística.

**Conclusões:** apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

### Resumo de artigo de revisão

**Objetivo:** informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se ela enfatiza algum fator em especial, como causa, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

**Fontes dos dados:** descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de seleção de artigos e os métodos de extração e avaliação da qualidade das informações.

**Síntese dos dados:** informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos.

**Conclusões:** apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

### Resumo de comunicação breve

Para observações experimentais, utilizar o modelo descrito para resumo de artigo original.

Para relatos de caso, utilizar o seguinte formato:

**Objetivo:** informar por que o caso merece ser publicado, com ênfase nas questões de raridade, ineditismo ou novas formas de diagnóstico e tratamento.

**Descrição:** apresentar sinteticamente as informações básicas do caso, com ênfase nas mesmas questões de ineditismo e inovação.

**Comentários:** conclusões sobre a importância do relato para a comunidade pediátrica e as perspectivas de aplicação prática das abordagens inovadoras.

Abaixo do resumo, fornecer de três a seis **descritores**, que são palavras-chave ou expressões-chave que auxiliarão a inclusão adequada do resumo nos bancos de dados bibliográficos. Empregar descritores integrantes da lista de "Descritores em Ciências da Saúde"<sup>4</sup>, elaborada pela BIREME e disponível nas bibliotecas médicas ou na Internet (<http://decs.bvs.br>). Se não houver descritores adequados na referida lista, usar termos novos.

Logo para a sua síntese, que, entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as idéias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

O texto de relatos de caso deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

**a) Introdução:** apresenta de modo sucinto o que se sabe a respeito da doença em questão e quais são as práticas de abordagem diagnóstica e terapêutica, por meio de uma breve, porém atual, revisão da literatura.

**b) Descrição do(s) caso(s):** o caso é apresentado com detalhes suficientes para o leitor compreender toda a evolução e seus fatores condicionantes. Quando o artigo tratar do relato de mais de um caso, sugere-se agrupar as informações em uma tabela, por uma questão de clareza e aproveitamento do espaço. Evitar incluir mais de duas figuras.

**c) Discussão:** apresenta correlações do(s) caso(s) com outros descritos e a importância do relato para a comunidade pediátrica, bem como as perspectivas de aplicação prática das abordagens inovadoras.

### Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

envolvendo seres humanos. DOU 1996 Out 16; no. 201, seção 1:21082-21085.

## ANEXO B–

### Normas para submissão de manuscritos para o *Public Health Nutrition*

*Public Health Nutrition* (PHN) provides an international, peer-reviewed forum for the publication and dissemination of research with a specific focus on nutrition-related public health. The Journal publishes original and commissioned articles, high quality meta-analyses and reviews, commentaries and discussion papers for debate, as well as special issues. It also seeks to identify and publish special supplements on major topics of interest to readers.

### SCOPE

The scope of *Public Health Nutrition* includes multi-level determinants of dietary intake and patterns, anthropometry, food systems, and their effects on health-related outcomes. We welcome papers that:

- Address **monitoring and surveillance** of nutritional status and nutritional environments in communities or populations at risk
- Identify and analyse behavioral, sociocultural, economic, political, and environmental **determinants of nutrition-related public health**
- Develop **methodology** needed for assessment and monitoring
- Inform efforts to improve **communication of nutrition-related information**
- **Build workforce capacity** for effective public health nutrition action
- Evaluate or discuss the effectiveness of **food and nutrition policies**
- Describe the development, implementation, and evaluation of **innovative interventions and programs** to address nutrition-related problems
- Relate diet and nutrition to **sustainability** of the environment and food systems

Papers that do not fall within the scope as described above may be directed to more appropriate journals. We prefer papers that are innovative (do not repeat research already undertaken elsewhere) and relevant to an international readership.

### ARTICLE TYPES

PHN publishes Research Articles, Short Communications, Review Articles, Letters to the Editors, Commentaries and Editorials. Research Articles, Short Communications and Review Articles should be submitted to <http://mc.manuscriptcentral.com/phnutr>. Please contact the Editorial Office on [phn.edoffice@cambridge.org](mailto:phn.edoffice@cambridge.org) regarding any other types of submission.

A typical paper should be no more than 5000 words long, not including the abstract, references, tables, figures and acknowledgements. Papers submitted as Short Communications should consist of no more than 2000 words, plus a maximum of 3 tables OR figures.

For systematic reviews and meta-analyses, the journal endorses the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Statement (see British Medical Journal (2009) 339, b2535). Such submissions should follow the [PRISMA guidelines](#) and authors should include the PRISMA checklist with their submission (see instructions below).

Letters or commentaries are welcome that discuss, criticise or develop themes put forward in papers published in PHN or that deal with matters relevant to it. They should not be used as a means of publishing new work. Acceptance will be at the discretion of the Editorial Board, and editorial changes may be required. Wherever possible, letters from responding authors will be included in the same issue.

### SUBMISSION AND REVIEW PROCESS

PHN uses [ScholarOne Manuscripts](#) for online submission and peer review. As part of the online submission process, authors are asked to affirm that the submission represents original work that has not been published previously; that it is not currently being considered by another journal; and that each author has seen and approved the contents of the submitted manuscript.

At submission, authors must nominate at least four potential referees who may be asked by the Editorial Board to help review the work. PHN uses a double-blind review process, and manuscripts are normally reviewed by two external peer reviewers and a member of the Editorial Board. Revisions must be resubmitted within 2 months or they will be deemed a new paper. When substantial revisions are required after review, authors are normally given the opportunity to do this once only; the need for any further changes should reflect only minor issues.

## PUBLISHING ETHICS

PHN adheres to the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines on research and publications ethics. The Journal considers all manuscripts on the strict condition that:

1. The manuscript is your own original work, and does not duplicate any previously published work;
2. The manuscript has been submitted only to the journal - it is not under consideration or peer review or accepted for publication or in press or published elsewhere;
3. All listed authors know of and agree to the manuscript being submitted to the journal; and
4. The manuscript contains nothing abusive, defamatory, fraudulent, illegal, libellous, or obscene.

Text taken directly or closely paraphrased from earlier published work that has not been acknowledged or referenced will be considered plagiarism. Submitted manuscripts in which such text is identified will be withdrawn from the editorial process. Any concerns raised about possible plagiarism or other violations of ethical guidelines in an article submitted to or published in PHN will be investigated fully and dealt with in accordance with the COPE guidelines.

## DETAILED MANUSCRIPT PREPARATION INSTRUCTIONS

### Language

Papers submitted for publication must be written in English and should be as concise as possible. We recommend that authors have their manuscript checked by an English language native speaker before submission, to ensure that submissions are judged at peer review exclusively on academic merit. We list a [number of third-party services](#) specialising in language editing and / or translation, and suggest that authors contact as appropriate. Use of any of these services is voluntary, and at the author's own expense.

Spelling should generally be that of the *Concise Oxford Dictionary* (1995), 9th ed. Oxford: Clarendon Press. Authors are advised to consult a current issue in order to make themselves familiar with PHN as to typographical and other conventions, layout of tables etc.

### Authorship

The Journal conforms to the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) definition of authorship. Authorship credit should be based on:

1. Substantial contributions to conception and design, data acquisition, analysis and/or interpretation;
2. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and
3. Final approval of the version to be published.

The contribution of individuals who were involved in the study but do not meet these criteria should be described in the Acknowledgments section.

### Ethical standards

All submissions must abide by the guidelines in the World Medical Association (2000) Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, with notes of clarification of 2002 and 2004 (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>), the Guidelines on the Practice of Ethics Committees Involved in Medical Research Involving Human Subjects (3rd ed., 1996; London: The Royal College of Physicians) and the Guidelines for the Ethical Conduct of Medical Research Involving Children, revised in 2000 by the Royal College of Paediatrics and Child Health: Ethics Advisory Committee (Arch Dis Child (2000) 82, 177-182).

### PRISMA Checklist

For systematic reviews and meta-analyses, PHN requires completion of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) checklist ([www.prisma-statement.org/](http://www.prisma-statement.org/)). This policy includes all systematic reviews, including those for observational studies. A completed copy of the

checklist should be submitted along with the manuscript, with page numbers noted as required. When a given item has not been addressed, authors must provide an explanation.

*Editors and reviewers will not evaluate manuscripts based on the number of items checked off in the checklist.* The purpose of the PRISMA guidelines is to recommend a critical set of items that should typically be reported in a manuscript. The guidelines are meant to improve transparency by helping authors improve the quality of their reporting. More clarity in reporting will facilitate review of your manuscript and increase its value to readers.

#### **Cover Letter**

Authors are invited to submit a cover letter including a short explanation of how the article advances the field of public health nutrition in terms of research, practice, or policy, and of its relevance to an international readership. The text for the cover letter should be entered in the appropriate box as part of the online submission process.

#### **Title Page**

Authors must submit a title page online **as a separate file to their manuscript**, to enable double-blind reviewing. For the same reason, the information on the title page should not be included in the manuscript itself. The title page should include:

1. The title of the article;
2. Authors' names, given without titles or degrees;
3. Name and address of department(s) and institution(s) to which the work should be attributed for each author, with each author's institution(s) identified by a superscript number (e.g. A.B. Smith<sup>1</sup>);
4. Name, mailing address, email address, telephone and fax numbers of the author responsible for correspondence about the manuscript;
5. A shortened version of the title, not exceeding 45 characters (including letters and spaces) in length;
6. Disclosure statements, as outlined below. These must be included on the title page and **not in the manuscript file**, to enable double-blind reviewing; if the paper is accepted, they will be inserted into the manuscript during production.

#### **Acknowledgments**

Here you may acknowledge individuals or organizations that provided advice and/or support (non-financial). Formal financial support and funding should be listed in the following section.

#### **Financial Support**

Please provide details of the sources of financial support for all authors, including grant numbers. For example, "This work was supported by the Medical research Council (grant number XXXXXXX)" . Multiple grant numbers should be separated by a comma and space, and where research was funded by more than one agency the different agencies should be separated by a semi-colon, with "and" before the final funder. Grants held by different authors should be identified as belonging to individual authors by the authors' initials. For example, "This work was supported by the Wellcome Trust (A.B., grant numbers XXXX, YYYY), (C.D., grant number ZZZZ); the Natural Environment Research Council (E.F., grant number FFFF); and the National Institutes of Health (A.B., grant number GGGG), (E.F., grant number HHHH)" .

This disclosure is particularly important in the case of research supported by industry, including not only direct financial support for the study but also support in kind such as provision of medications, equipment, kits or reagents without charge or at reduced cost and provision of services such as statistical analysis. **All such support**, financial and in kind, should be disclosed here.

Where no specific funding has been provided for research, please provide the following statement:

"This research received no specific grant from any funding agency, commercial or not-for-profit sectors."

In addition to the source of financial support, please state whether the funder contributed to the study design, conduct of the study, analysis of samples or data, interpretation of findings or the preparation of the manuscript. If the funder made no such contribution, please provide the following statement: "[Funder's name] had no role in the design, analysis or writing of this article."

#### **Conflict of Interest**

The Journal adheres to the definition of conflicts of interest given by the [ICMJE guidelines](#). A conflict of interest exists when an author has interests that might inappropriately influence his or her judgement, even if that judgement is not influenced. Financial relationships such as employment, consultancies, or honoraria, are the most easily identifiable conflicts of interest. However, non-

financial conflicts can also exist as a result of personal relationships, academic competition, and personal or intellectual beliefs.

Having a conflict of interest is not in itself wrong, and not all relationships may lead to an actual conflict of interest. However, PHN requires full disclosure about any relevant relationships, even if the author or reviewer does not believe it affects their judgment. These disclosures can then be used as a basis for editorial decisions. One question that provides some guidance in deciding which relationships merit declaration as potential conflicts of interest is this: if a relationship is not disclosed, would a reasonable reader feel misled? **When in doubt, full transparency is the best course of action.** Perceived conflicts of interest are as important as actual conflicts of interest, and undeclared conflicts (perceived as well as actual) can undermine the credibility of both the journal and the authors.

So that others can make judgements about potential conflicts, please provide details of **all known financial and non-financial (professional and personal) relationships with the potential to bias the work.** Where no known conflicts of interest exist, please include the following statement: "None."

#### ***Authorship***

Please provide a very brief description of the contribution of each author to the research. Their roles in formulating the research question(s), designing the study, carrying it out, analysing the data and writing the article should be made plain.

#### ***Ethical Standards Disclosure***

Manuscripts describing experiments involving human subjects must include the following statement:

"This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects/patients were approved by the [name of the ethics committee]. Written [or Verbal] informed consent was obtained from all subjects/patients." Where verbal consent was obtained, this must be followed by a statement such as: "Verbal consent was witnessed and formally recorded."

#### ***Manuscript Format***

The requirements of PHN are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the ICMJE, and authors are encouraged to consult the [latest guidelines](#), which contain useful, general information about preparing scientific papers. Authors should also consult the [CONSORT guidelines](#) for reporting results of randomised trials.

For detailed instructions regarding **mathematical modelling, statistical analysis and nomenclature requirements**, please refer to the [Appendix](#) to these instructions.

Typescripts should be prepared with 1.5 line spacing and wide margins (2 cm), the preferred font being Times New Roman size 12. At the ends of lines, words should not be hyphenated unless hyphens are to be printed. **Line numbering and page numbering are required.**

Manuscripts should be organised as follows:

#### ***Abstract***

Each paper must open with a structured abstract of **not more than 250 words**. The abstract should consist of the following headings: Objective, Design, Setting, Subjects, Results, Conclusions. All the headings should be used, and there should be a separate paragraph for each one. The abstract should be intelligible without reference to text or figures.

#### ***Keywords***

Authors should list at least four keywords or phrases (each containing up to three words).

#### ***Introduction***

It is not necessary to introduce a paper with a full account of the relevant literature, but the introduction should indicate briefly the nature of the question asked and the reasons for asking it.

#### ***Methods***

For manuscripts describing experiments involving human subjects, the required ethical standards disclosure statement must be included **on the title page only** as described above. It will then be inserted into this section of the manuscript during production.

#### ***Results***

These should be given as concisely as possible, using figures or tables as appropriate. Data should not be duplicated in tables and figures.

#### ***Discussion***

While it is generally desirable that the presentation of the results and the discussion of their significance should be presented separately, there may be occasions when combining these sections may be beneficial. Authors may also find that additional or alternative sections such as 'conclusions' may be useful.

#### ***References***

References should be numbered consecutively in the order in which they first appear in the text using superscript Arabic numerals in parentheses, e.g. ‘The conceptual difficulty of this approach has recently been highlighted<sup>(1,2)</sup>’. If a reference is cited more than once, the same number should be used each time. References cited only in tables and figure legends should be numbered in sequence from the last number used in the text and in the order of mention of the individual tables and figures in the text.

Names and initials of authors of unpublished work should be given in the text as ‘unpublished results’ and not included in the References. References that have been published online only but not yet in an issue should include the online publication date and the Digital Object Identifier (doi) reference, as per the example below.

At the end of the paper, on a page(s) separate from the text, references should be listed in numerical order using the Vancouver system. When an article has more than three authors only the names of the first three authors should be given followed by ‘*et al.*’ The issue number should be omitted if there is continuous pagination throughout a volume. Titles of journals should appear in their abbreviated form using the [NCBI LinkOut page](#). References to books and monographs should include the town of publication and the number of the edition to which reference is made. References to material available on websites should follow a similar style, with the full URL included at the end of the reference, as well as the date of the version cited and the date of access.

Examples of correct forms of references are given below.

#### *Journal articles*

1. Rebello SA, Koh H, Chen C *et al.* (2014) Amount, type, and sources of carbohydrates in relation to ischemic heart disease mortality in a Chinese population: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr* **100**, 53-64.
2. Villar J, Ismail LC, Victora CG *et al.* (2014) International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet* **384**, 857-868.
3. Alonso VR & Guarner F (2013) Linking the gut microbiota to human health. *Br J Nutr* **109**, Suppl. 2, S21–S26.
4. Bauserman M, Lokangaka A, Gado J *et al.* A cluster-randomized trial determining the efficacy of caterpillar cereal as a locally available and sustainable complementary food to prevent stunting and anaemia. *Public Health Nutr.* Published online: 29 January 2015. doi: 10.1017/S1368980014003334.

#### *Books and monographs*

1. Bradbury J (2002) Dietary intervention in edentulous patients. PhD Thesis, University of Newcastle.
2. Ailhaud G & Hauner H (2004) Development of white adipose tissue. In *Handbook of Obesity. Etiology and Pathophysiology*, 2nd ed., pp. 481–514 [GA Bray and C Bouchard, editors]. New York: Marcel Dekker.
3. Bruinsma J (editor) (2003) *World Agriculture towards 2015/2030: An FAO Perspective*. London: Earthscan Publications.
4. World Health Organization (2003) *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*. Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series no. 916. Geneva: WHO.
5. Keiding L (1997) *Astma, Allergi og Anden Overfølsomhed i Danmark – Og Udviklingen 1987–1991 (Asthma, Allergy and Other Hypersensitivities in Denmark, 1987–1991)*. Copenhagen, Denmark: Dansk Institut for Klinisk Epidemiologi.

#### *Sources from the internet*

1. Nationmaster (2005) HIV AIDS – Adult prevalence rate. [http://www.nationmaster.com/graph-T/hea\\_hiv\\_aid\\_adu\\_pre\\_rat](http://www.nationmaster.com/graph-T/hea_hiv_aid_adu_pre_rat) (accessed June 2013).

#### *Tables*

Tables should be placed in the main manuscript file at the end of the document, not within the main text. Be sure that each table is cited in the text. Tables should carry headings describing their content and should be comprehensible without reference to the text. Tables should not be subdivided by ruled lines.

The dimensions of the values, e.g. mg/kg, should be given at the top of each column. Separate columns should be used for measures of variance (SD, SE etc.), the  $\pm$  sign should not be used. The number of decimal places used should be standardized; for whole numbers 1.0, 2.0 etc. should be used. Shortened forms of the words weight (wt) and height (ht) may be used to save space in tables.

Footnotes are given in the following order: (1) abbreviations, (2) superscript letters, (3) symbols. Abbreviations are given in the format: RS, resistant starch. Abbreviations in tables must be defined in footnotes in the order that they appear in the table (reading from left to right across the table, then down each column). Symbols for footnotes should be used in the sequence: \* † ‡ § || ¶, then \*\* etc. (omit \* or †, or both, from the sequence if they are used to indicate levels of significance).

For indicating statistical significance, superscript letters or symbols may be used. Superscript letters are useful where comparisons are within a row or column and the level of significance is uniform, e.g. ‘<sup>a,b,c</sup>Mean values within a column with unlike superscript letters were significantly different ( $P < 0.05$ )’. Symbols are useful for indicating significant differences between rows or columns, especially where different levels of significance are found, e.g. ‘Mean values were significantly different from those of the control group: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ’. The symbols used for  $P$  values in the tables must be consistent.

### **Figures**

Figures should be supplied as separate electronic files. Figure legends should be grouped in a section at the end of the manuscript text. Each figure should be clearly marked with its number and separate panels within figures should be clearly marked (a), (b), (c) etc. so that they are easily identifiable when the article and figure files are merged for review. Each figure, with its legend, should be comprehensible without reference to the text and should include definitions of abbreviations.

We recommend that only TIFF, EPS or PDF formats are used for electronic artwork. Other formats (e.g., JPG, PPT and GIF files and images created in Microsoft Word) are usable but generally NOT suitable for conversion to print reproduction. For further information about how to prepare your figures, including sizing and resolution requirements, please see our [artwork guide](#).

In curves presenting experimental results the determined points should be clearly shown, the symbols used being, in order of preference, ○, ●, △, ▲, □, ■, ×, +. Curves and symbols should not extend beyond the experimental points. Scale-marks on the axes should be on the inner side of each axis and should extend beyond the last experimental point. Ensure that lines and symbols used in graphs and shading used in histograms are large enough to be easily identified when the figure size is reduced to fit the printed page.

Colour figures will be published online free of charge, and there is a fee of £300 per figure for colour figures in the printed version. If you request colour figures in the printed version, you will be contacted by CCC-Rightslink who are acting on our behalf to collect colour charges. Please follow their instructions in order to avoid any delay in the publication of your article.

### **Supplementary material**

Additional data (e.g. data sets, large tables) relevant to the paper can be submitted for publication online only, where they are made available via a link from the paper. The paper should stand alone without these data. Supplementary Material must be cited in a relevant place in the text of the paper.

Although Supplementary Material is peer reviewed, it is not checked, copyedited or typeset after acceptance and it is loaded onto the journal’s website exactly as supplied. You should check your Supplementary Material carefully to ensure that it adheres to journal styles. Corrections cannot be made to the Supplementary Material after acceptance of the manuscript. Please bear this in mind when deciding what content to include as Supplementary Material.

### **License to Publish form**

Authors or their institutions retain copyright of papers published in PHN. The corresponding author is asked to complete a [License to Publish form](#) on behalf of all authors, and upload this with the manuscript files **at the time of submission**. The form includes confirmation that permission for all appropriate uses has been obtained from the copyright holder for any figures or other material not in the authors’ copyright, and that the appropriate acknowledgement has been made to the original source. If the manuscript is not accepted, the form will be destroyed.

### **Open Access**

Authors in PHN have the option to publish their paper under a fully Open Access agreement, upon payment of a one-off Article Processing Charge. In this case, the final published Version of Record will be made freely available to all in perpetuity under a creative commons license, enabling its re-use and re-distribution. This Open Access option is only offered to authors upon acceptance of an article for publication.

Authors choosing the Open Access option are required to complete the Open Access [License to Publish form](#). More information about Open Access in PHN, including the current Article Processing Charge, can be found on [our website](#).

**Accepted Manuscripts**

PDF proofs are sent to authors in order to make sure that the paper has been correctly set up in type. Only changes to errors induced by typesetting/copy-editing or typographical errors will be accepted. Corrected proofs should be returned within 2 days by email to Gill Watling at [gillwatling@btinternet.com](mailto:gillwatling@btinternet.com). If corrected proofs are not received from authors within 7 days the paper may be published as it stands.

**Offprints**

A PDF file of the paper will be supplied free of charge to the corresponding author of each paper, and offprints may be ordered on the order form sent with the proofs.

**CONTACT**

Prospective authors may contact the Editorial Office directly on +44 (0) 1223 327954 (telephone) or [phn.edoffice@cambridge.org](mailto:phn.edoffice@cambridge.org).

Additionally, more information about the journal, including recent issues, can be found at <http://journals.cambridge.org/phn>.

**APPENDIX: MATHEMATICAL MODELLING, STATISTICS AND NOMENCLATURE**

## ANEXO C - Carta de anuência Maternidade Prof. Bandeira Filho

## CARTA DE ANUÊNCIA

Declaro, para os devidos fins, que autorizo a realização do Projeto de Pesquisa, intitulado: **Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no pós-parto sobre os níveis de vitamina A no leite materno, o estado nutricional de vitamina A e ferro no binômio mãe-filho e no crescimento e morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno**, sob a responsabilidade da Pesquisadora Luciana Marques Andreto, do curso de Doutorado em Nutrição, da Universidade Federal de Pernambuco, desenvolvendo as atividades na Maternidade Prof. Bandeira Filho, pelo período de execução previsto no referido Projeto.

Dr. Erick Moreno Martinez  
CRM - PE 10.095  
Diretor de Atenção à Saúde  
M B F - AFOGADOS

  
Diretor Maternidade Prof. Bandeira Filho

  
Luciana Marques Andreto  
Matrícula: 65469-5  
Identidade: 5067242932- SSP-RS  
CPF: 021227384-13  
Fone para contato: 91080939  
E-mail: [lucianandreto@hotmail.com](mailto:lucianandreto@hotmail.com)

ANEXO D - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto De Medicina Integral Prof. Fernando Figueira, IMIP

**Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira**  
Escola de Pós-Graduação em Saúde Materno Infantil  
Instituição Civil Filantrópica



**C Ó P I A**

**DECLARAÇÃO**

Declaro que o Projeto nº 720, intitulado “Impacto da Suplementação Materna com Dupla Megadose de Vitamina A no Post Partum imediato sobre o Estado Nutricional de Vitamina A e Ferro no Binômio Mãe – Filho e no Crescimento e Morbidade das Crianças Menores de 06 meses em Aleitamento Materno”, foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, em sua Reunião Ordinária em 05 de janeiro de 2006.

Recife, 27 de Janeiro de 2006.

  
**Prof. José Eulálio Cabral Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética  
e Pesquisa em Seres Humanos do  
Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira

UTILIDADE PÚBLICA MUNICIPAL – Dec. Lei 9851 de 08/11/87  
UTILIDADE PÚBLICA ESTADUAL – Dec. Lei 5013 de 14/05/84  
UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL – Dec. Lei 86238 de 30/07/81  
INSCRIÇÃO MUNICIPAL: 05.897-1  
INSCRIÇÃO ESTADUAL: Isento  
CNPJ: 10.988.301/0001-29

Rua dos Coelhos, 300 – Boa Vista  
Recife - PE - Brasil CEP 50.070-550  
FABX: (81) 2122.4100  
Fax: (81) 2122.4702 Cx. Postal 1393  
e-mail: [imip@imip.org.br](mailto:imip@imip.org.br)  
home-page: [www.imip.org.br](http://www.imip.org.br)