



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



RAFAELLA DE ANDRADE SILVA CAVALCANTI

**CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA B12, FOLATO
INTRA-ERITROCITÁRIO E HEMOGLOBINA EM MULHERES EM
IDADE FÉRTIL E SUA ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS SÓCIO-
ECONÔMICAS, DEMOGRÁFICAS, ANTROPOMÉTRICAS E DO
ESTILO DE VIDA**

Recife - PE

2018

RAFAELLA DE ANDRADE SILVA CAVALCANTI

**CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA B12, FOLATO
INTRA-ERITROCITÁRIO E HEMOGLOBINA EM MULHERES EM
IDADE FÉRTIL E SUA ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS SÓCIO-
ECONÔMICAS, DEMOGRÁFICAS, ANTROPOMÉTRICAS E DO
ESTILO DE VIDA**

Orientador: Alcides da Silva Diniz

Coorientadora: Ilma Kruze Grande de Arruda

Recife - PE

2018

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

C376c Cavalcanti, Rafaella de Andrade Silva.
Concentrações séricas de vitamina B12, folato intra-eritrocitário e hemoglobina em mulheres em idade fértil e sua associação com variáveis sócioeconômicas, demográficas, antropométricas e do estilo de vida / Rafaella de Andrade Silva Cavalcanti. – 2018.
110 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Alcides da Silva Diniz.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Ácido fólico. 2. Vitamina B12. 3. Anemia. 4. Ferro. 5. Consumo alimentar. I. Diniz, Alcides da Silva (Orientador). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2018-229)

Rafaella de Andrade Silva Cavalcanti

**CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE VITAMINA B12, FOLATO IN
ERITROCITÁRIO E HEMOGLOBINA EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL E SUA
ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS SÓCIO-ECONÔMICAS, DEMOGRÁFICAS,
ANTROPOMÉTRICAS E DO ESTILO DE VIDA**

Aprovada em: 04/06/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Poliana Coelho Cabral

Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

Prof^a. Dr^a. Ilma Kruze Grande de Arruda

Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

Prof^a. Dr^a. Maria Goretti Pessoa de Araújo Burgos

Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

Prof^a. Dr^a. Regiane Mario

Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Chaves de Lemos

Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

Recife

2018

AGRADECIMENTOS

A Deus sempre, não só por me proporcionar uma vida repleta de oportunidades, mas também por se fazer sentir presente em todos os momentos, renovando minha fé a cada instante.

Aos meus orientadores, Prof^o. Alcides e Prof^a. Ilma, muito obrigada pela disponibilidade e paciência em guiar a construção deste trabalho, por todo conhecimento transmitido, pelas preciosas contribuições e por esclarecerem todas as minhas dúvidas.

Aos meus pais, Rafael e Antonia, agradeço pela dedicação de uma vida, pela educação, formação, compreensão, respeito, carinho e amor que sempre me deram e com amor desmedido, guiaram desde os meus primeiros passos até os degraus aqui alcançados.

Ao meu irmão, Rafael, por completar e dar sentido a minha família.

Ao meu esposo Lucio, por constituir a razão de muitos dos meus sorrisos e pelo companheirismo, incentivo e amor que me completam e me fortalecem.

Aos meus avós e familiares, grandes exemplos de vida e sabedoria, fonte de amor infinito que me estimula a crescer pessoalmente.

As amigas irmãs Marília e Renata, pelo incentivo desde o início da decisão de ingressar na vida acadêmica e pela amizade e cumplicidade em todos os momentos.

As amigas que ganhei de presente durante o Doutorado, Fabíola e Heleni, assim como a todas as colegas da turma de 2015, por todo apoio e pelos bons momentos compartilhados e por terem tornado toda essa trajetória mais leve e agradável.

As amigas do Hospital Agamenon Magalhães, sobretudo Andréa, Célia, Marluce, Luzinete, Raquel, Roberta e Suzana pelos bons momentos compartilhados e exemplos de amizade, nos momentos alegres e também nos mais doloridos e temidos.

A Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e aos professores, pela qualidade do ensino oferecido e pelos ensinamentos que levarei comigo na minha vida profissional.

As secretárias Andréa, Cecília e Maria de Jesus pela disponibilidade e auxílio nos meandros burocráticos.

Aos membros da banca examinadora deste trabalho, por disponibilizarem seu valioso tempo para contribuir com o resultado final dessa tese.

A todas as adolescentes e mulheres, que gentilmente aceitaram participar desta pesquisa, contribuindo para o alcance dos resultados.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que ajudaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. O meu reconhecimento, gratidão e respeito a todos.

RESUMO

Mulheres em idade fértil representam um grupo de alta vulnerabilidade para o desenvolvimento de deficiências nutricionais, especialmente carência de ferro e nutrientes relacionados a uma gestação adequada, como o ácido fólico e vitamina B12. Verificar a associação entre as concentrações de vitamina B12 sérica, de folato intra-eritrocitário e de hemoglobina em mulheres em idade fértil com variáveis sócio-econômicas, demográficas, de estado nutricional e do consumo alimentar. Delineamento transversal, com amostra aleatória de 1210 mulheres em idade fértil. As concentrações de vitamina B12 sérica e de folato intra-eritrocitário foram analisadas por imunoenensaio e as concentrações de hemoglobina por determinação automatizada. Foi aplicado um questionário para coleta dos dados sócio-econômicos, demográficos de estado nutricional e um questionário de frequência alimentar para avaliar o consumo alimentar. Reduções nas concentrações de hemoglobina foram encontradas em 141 mulheres (12,0%, IC_{95%}: 10,3 - 13,9), de vitamina B12 sérica em 81 mulheres (7,0%, IC_{95%}: 5,7 - 8,6) e apenas 1 mulher apresentou redução nas concentrações de folato intra-eritrocitário. Nenhuma mulher apresentou redução concomitante nas concentrações de folato intra-eritrocitário, vitamina B12 sérica e de hemoglobina. As concentrações de folato intra-eritrocitário foram maiores nas mulheres de maior faixa etária e maior renda, enquanto as concentrações de hemoglobina foram menores nas fumantes e as concentrações séricas de vitamina B12 não apresentaram variação significativa em função dos parâmetros avaliados. Não houve forte correlação entre os nutrientes e as concentrações bioquímicas avaliadas, apenas a correlação entre o consumo alimentar de ácido fólico com as concentrações de folato intra-eritrocitário apresentou significância estatística. Foi observada diferença significativa no consumo de ferro, fibras, vitamina C e cálcio quanto à faixa etária, escolaridade e renda. O consumo de ferro apresentou uma correlação fortemente positiva com o de ácido fólico, de proteínas, de fibras, de cálcio e de zinco, embora, essa correlação tenha se mostrado discreta com o consumo de vitamina C. Apesar das estratégias para erradicar a anemia, essa carência nutricional foi dominante. A deficiência de vitamina B12 sérica superando a de folato intra-eritrocitário é preocupante, em virtude da ausência de programas de combate à insuficiência de vitamina B12, como a fortificação de alimentos.

Palavras-chave: Ácido fólico. Vitamina B12. Anemia. Ferro. Consumo alimentar.

ABSTRACT

Women of childbearing age represent a highly vulnerability group for the development of nutritional deficiencies, especially iron deficiency and nutrients related to an adequate pregnancy, such as folic acid and vitamin B12. Verify the relations between serum vitamin B12, intra-erythrocyte folate and hemoglobin concentrations in women of childbearing age, and their association with several socio-economic and demographic variables, nutritional status and food consumption. Cross-sectional design with a random sample of 1210 women of childbearing age. Concentrations of serum vitamin B12 and intra-erythrocyte folate were analyzed by immunoassay and hemoglobin concentrations by automated determination. A questionnaire was used to collect socioeconomic, demographic data of nutritional status and a food frequency questionnaire to evaluate food consumption. Reductions in hemoglobin concentrations were found in 141 women (12.0%, 95% CI: 10.3 - 13.9), serum vitamin B12 in 81 women (7.0%, 95% CI: 5.7 - 8,6) and only 1 woman had a reduction in intra-erythrocyte folate concentrations. No women had a concomitant reduction in intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin concentrations. Intra-erythrocyte folate concentrations were higher in women of higher age and higher income, whereas hemoglobin concentrations were lower in smokers and serum vitamin B12 concentrations did not show significant variation as a function of the parameters evaluated. There was no strong correlation between the nutrients and the biochemical concentrations evaluated, only the correlation between the dietary intake of folic acid and the concentrations of intra-erythrocyte folate presented statistical significance. Significant difference was observed in the consumption of iron, fiber, vitamin C and calcium in terms of age, schooling and income. Iron intake had a strongly positive correlation with folic acid, protein, fiber, calcium and zinc, although this correlation was inconsistent with vitamin C intake. Despite strategies to eradicate anemia, this nutritional deficiency was dominant. Serum vitamin B12 deficiency outpacing intra-erythrocyte folate is of concern, due to the lack of programs to combat vitamin B12 insufficiency, such as food fortification.

Keywords: Folic acid. Vitamin B12. Anemia. Iron. Food consumption.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Concentrações de folato intra-eritrocitário, de vitamina B12 sérica e de hemoglobina, segundo variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas, em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 – 2008.....42
- Tabela 2** - Consumo calórico e de nutrientes por 1000 kcal, segundo variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas, em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.43
- Tabela 3** - Consumo de ferro e de fibra ajustado pela renda familiar e a idade em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008..... 45
- Tabela 4** - Correlação entre o consumo de ferro com ácido fólico e com nutrientes potencialmente facilitadores e inibidores da sua absorção em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.46

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química do mineral ferro.....	21
Figura 2 - Estrutura química do ácido fólico	23
Figura 3 - Estrutura química da vitamina B12 (cianocobalamina)	29
Figura 4 - Correlação entre o consumo alimentar de ácido fólico, ferro e proteínas com as concentrações de folato intra-eritrocitário, de hemoglobina e de vitamina B12 sérica em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	HIPÓTESE	16
3	OBJETIVOS	17
4	REVISÃO DA LITERATURA	18
5	MÉTODOS	32
5.1	Desenho, casuística e local do estudo	32
5.2	Amostragem	32
5.3	Variáveis de análise	33
5.4	Procedimentos e técnicas de avaliação	34
5.4.1	Avaliação laboratorial.....	34
5.4.2	Avaliação antropométrica	34
5.4.3	Avaliação dietética	35
5.5	Processamento e análise dos dados	36
5.6	Aspectos éticos	38
6	RESULTADOS	39
7	DISCUSSÃO	48
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	REFERÊNCIAS	60
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	68
	APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO PRÉ-CODIFICADO PARA COLETA DE DADOS	69
	APÊNDICE C - QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR	70
	APÊNDICE D - ARTIGO ENVIADO PARA A REVISTA EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION	73
	APÊNDICE E: ARTIGO ENVIADO PARA A REVISTA CIÊNCIA E SAÚDE COLETIVA	90
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	108
	ANEXO B - COMPROVANTE DE ENVIO DE ARTIGO PARA A REVISTA EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION	109
	ANEXO C - COMPROVANTE DE ENVIO DE ARTIGO PARA A REVISTA EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION	110

1 INTRODUÇÃO

Apesar das mudanças decorrentes da transição epidemiológica e nutricional ocorrida nas últimas décadas, as deficiências nutricionais ainda constituem um problema de saúde pública, afetando países desenvolvidos e em desenvolvimento (HAIDER et al., 2013; CAVALCANTI et al., 2014; MILLER; SPIRO; STANNER, 2016; HARDING; AGUAYO; WEBB, 2017), coexistindo, inclusive simultaneamente com a condição típica dos excessos alimentares, a obesidade (BATISTA FILHO et al., 2008; CEPEDA-LOPES et al., 2015).

As anemias carenciais, em especial a ferropriva, há bastante tempo passaram a ser reconhecidas como uma endemia de caráter cosmopolita, que se distribuem em todos os continentes, blocos geoeconômicos e grupos sociais (WHO, 2008). Contudo, é importante destacar que os problemas carenciais de interesse epidemiológico apresentam um evidente viés socioeconômico, prevalecendo nos países, regiões e famílias mais desfavorecidas na estratificação das desigualdades de renda, educação, moradia, acesso aos serviços de saúde e outros aspectos, como o saneamento e a habitação (MIGLIOLI et al., 2013).

Mulheres no ciclo gravídico-puerperal ainda expressam elevados índices de anemia ferropriva e destacam-se como consequências deletérias da anemia no período da gestação a prematuridade, o baixo peso ao nascer, maiores taxas de mortalidade materna e perinatal, além disso, os seus conceptos têm menos da metade da reserva normal de ferro, podendo apresentar maior frequência de anemia no primeiro ano de vida (HAIDER et al., 2013, RAHMAN et al., 2016). A suplementação de micronutrientes tem sido apontada como uma estratégia para gestações mais saudáveis e com melhores resultados para a mãe e o bebê (DARNTON-HILL; MKPARU, 2015).

Reconhecendo os efeitos deletérios da anemia para a saúde e sobrevivência do binômio mãe/filho, o Ministério da Saúde implantou a suplementação medicamentosa de ferro no Programa de Atenção à Gestante em 1982 e a reiterou, em 2005, com o Programa Nacional de Suplementação de Ferro (ARAÚJO et al., 2013). Contudo, existe uma baixa aderência à suplementação medicamentosa, que ocorre principalmente entre gestantes muito jovens, de classe social desfavorecida economicamente, com baixo nível de atividade física e entre fumantes (OLMEDO-REQUENA et al., 2017). Além disso, a baixa adesão à suplementação medicamentosa também ocorre quando associada aos efeitos colaterais gastrointestinais, principalmente à diarreia (MACHADO et al., 2011).

Diante dessa situação e a exemplo do que ocorreu em diversos países, como Canadá, Chile, Costa Rica e Estados Unidos, o governo brasileiro estabeleceu a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico (BRASIL, 2002), efetivamente implementada no país a partir junho de 2004.

Alguns estudos têm evidenciado redução na prevalência de defeitos no tubo neural após a fortificação de alimentos com ácido fólico em diversos países (ARGÜELLO; SOLÍS, 2011; CRIDER; BAILEY; BERRY, 2011) e também no Brasil (FUJIMORI et al., 2013). Pouca atenção vem sendo destinada ao papel da vitamina B12 e a ocorrência de malformações do tubo neural, no entanto, além do ácido fólico o déficit de vitamina B12 em gestantes também aumenta o risco de defeitos do tubo neural, constituindo-se uma das mais comuns alterações congênitas (GUÉANT-RODRIGUEZ et al., 2003).

Um estudo caso-controle de base populacional realizado no Canadá apresentou um risco quase três vezes maior para a ocorrência de defeitos no tubo neural na presença de baixo nível de vitamina B12 materna (RAY et al., 2007). No

Brasil, não há estudos de base populacional avaliando a deficiência de vitamina B12 em mulheres em idade fértil. No entanto, os escassos estudos realizados relatam que em gestantes brasileiras a deficiência de vitamina B12 foi maior do que a de ácido fólico (GIUGLIANI; JORGE; GONÇALVES, 1984; THAME et al., 1998).

Há bastante tempo já foi evidenciado que a subvalorização de carências nutricionais e da anemia como um problema de saúde pública, em nível de políticas de governo, de certa forma se reproduz no plano dos estudos científicos, em escala epidemiológica ou clínica (SANTOS, 2002). Tal fato pode ser ilustrado levando-se em conta que apesar das facilidades técnicas e dos custos relativamente baixos requeridos para a avaliação quantitativa do problema (SANTOS, 2002), ainda não se dispõe, na maioria das nações, inclusive no Brasil, de estudos efetivamente representativos sobre sua ocorrência, sobretudo com relação à deficiência de vitamina B12 (ARAÚJO et al., 2013; CAVALCANTI et al., 2014; NAUMAN et al., 2018).

Tal desinteresse seria explicado pelo aparente consenso de que o problema estaria esgotado como tema de investigação. Admite-se, de uma forma um tanto arbitrária, que o grande déficit de micronutrientes para mulheres em idade fértil e gestantes decorre simplesmente da carência primária de ferro e de ácido fólico. Esta avaliação simplificada teoricamente satisfaz a compreensão da situação etioepidemiológica da anemia e da deficiência de ácido fólico e as diretrizes estratégicas universais recomendadas para seu controle, como o enriquecimento das massas alimentares com ferro e folato, na presunção de que estariam cobertas suas duas grandes vertentes etiológicas sob o ponto de vista de carência nutricional primária (BATISTA FILHO; SOUZA; BRESSANI, 2008).

Assim sendo, faz-se necessário investigar a associação entre as concentrações séricas de vitamina B12, folato intra-eritrocitário e hemoglobina (Hb) em mulheres em idade fértil e relacionar com variáveis sócio-econômicas, demográficas, antropométricas e o consumo alimentar, de forma a tornar possível o desenvolvimento de intervenções terapêuticas mais efetivas que possam prevenir e/ou diminuir a prevalência dessas carências nutricionais e, dessa forma, minimizar a ocorrência de complicações para as mães e seus conceptos.

2 HIPÓTESE

Mulheres em idade fértil representam um grupo de alta vulnerabilidade para o desenvolvimento de deficiências nutricionais, especialmente carência de ferro e nutrientes relacionados a uma gestação adequada, como o ácido fólico e a vitamina B12.

3 OBJETIVOS

- Estimar a magnitude da deficiência de vitamina B12 sérica, de folato intra-eritrocitário e de Hb em mulheres em idade fértil.
- Verificar a associação entre as concentrações séricas de vitamina B12, de folato intra-eritrocitário e de Hb com variáveis sócio-econômicas, demográficas, estado nutricional e consumo alimentar em idade fértil.
- Avaliar o padrão de consumo alimentar e correlacionar com variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas de mulheres em idade fértil.

4 REVISÃO DA LITERATURA

A "fome oculta" é um termo usado para descrever a deficiência de vitaminas e minerais (THOMPSON & AMOROSO, 2014). Estima-se que as deficiências de micronutrientes afetam cerca de dois bilhões de pessoas, ou seja, quase um terço da população mundial (THOMPSON & AMOROSO, 2014). Apesar do aumento mundial na ocorrência do sobrepeso e da obesidade a real dimensão das deficiências de micronutrientes permanece mal documentada e a "fome oculta" continua a ser um desafio global (HARDING; AGUAYO; WEBB, 2017).

Mulheres em idade fértil representam um grupo de alta vulnerabilidade para o desenvolvimento de deficiências nutricionais, especialmente carência de ferro e nutrientes relacionados a uma gestação adequada, como o ácido fólico e vitamina B12, em consequência da elevada demanda de nutrientes para suprir, tanto a necessidade da mãe, quanto do feto (IQBAL; EKMEKCIOGLU, 2017; NAUMAN et al., 2018; OBEID et al., 2017).

A anemia é uma das entidades nosológicas de descrição mais antiga na medicina e uma das mais difundidas na humanidade (BATISTA FILHO; SOUZA; BRESSANI, 2008). Dentre as carências nutricionais, a anemia ferropriva passou a ser reconhecida como a carência nutricional de maior prevalência no mundo, comportando-se como uma endemia de caráter cosmopolita, que se distribui em todos os continentes, blocos geoeconômicos e grupos sociais, embora sua ocorrência ainda conserve uma relação de dependência com a renda, a escolaridade, as condições insalubres das moradias e outras condições socioambientais negativas (WHO, 2001; IQBAL; EKMEKCIOGLU, 2017).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), pode-se classificar a significância populacional da prevalência de anemia, definida por concentrações de Hb inferiores a 12 g/dL (WHO, 2001), como normal ou aceitável (abaixo de 5%), leve

(de 5 a 19,9%), moderada (de 20 a 39,9%) e grave (maior ou igual a 40%) (WHO, 2001). A nível mundial, a anemia em mulheres é considerada como um leve problema de saúde pública, afeta cerca de 17%, sendo 15% mulheres em idade fértil e 19% mulheres grávidas (WHO, 2014).

Dados de base populacional para o território brasileiro, oriundos da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (BRASIL, 2009) descrevem como moderada a significância populacional da anemia em mulheres em idade fértil, com uma prevalência de 29,4%, atingindo quase 40% na região Nordeste (BRASIL, 2009). Esse é um dado preocupante, em virtude de o período gestacional ser o mais crítico em relação à necessidade orgânica de ferro e cerca de um terço das mulheres brasileiras em idade fértil já estarem anêmicas antes da gravidez (ARAÚJO et al., 2013).

Em Pernambuco, a prevalência de anemia ferropriva é considerada como do tipo leve, de acordo com os dados da última Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição, realizada em 2006 (III PESN, 2006), que estimou uma prevalência de anemia de 17% nas mulheres entre 10 e 49 anos (idade fértil), sendo de 14% e 15% no interior urbano e na zona rural respectivamente, enquanto na Região Metropolitana do Recife a prevalência foi um pouco maior, considerada uma prevalência moderada (21%).

Há bastante tempo vem sendo registrado que as populações mais afetadas pela anemia são mulheres em idade fértil, gestantes e crianças (GUILBERT, 2003). Mulheres no ciclo gravídico-puerperal representam um dos grupos mais vulneráveis à anemia por carência de ferro em decorrência da elevada demanda deste nutriente para suprir tanto a necessidade da mãe quanto do feto, estando a anemia ferropriva associada ao aumento da mortalidade materna, da mortalidade perinatal, da

prematuridade, do baixo peso ao nascer e os conceptos apresentam maior frequência de anemia no primeiro ano de vida (IQBAL; EKMEKCIOGLU, 2017).

A diversidade e a essencialidade das funções às quais o ferro (Figura 1) é relacionado tornaram esse mineral um dos micronutrientes mais estudados. Há quatro classes de proteínas contendo ferro: proteínas que contêm heme, como Hb, mioglobina e citocromos; entre as enzimas destacam-se as flavoproteínas, as hemeflavoproteínas; entre as proteínas de transporte: transferrina, lactoferrina; e de armazenamento a ferritina e a hemossiderina. Os ligantes mais comuns de ferro no sistema biológico são oxigênio, nitrogênio e enxofre. Portanto, as funções mais importantes do ferro estão ligadas as funções dessas proteínas no organismo, como o transporte de oxigênio realizado pela Hb nos eritrócitos e mioglobina nos músculos. Cerca de dois terços do ferro do organismo são encontrados sob a forma de Hb (MAFRA & COZZOLINO, 2016).

A deficiência de ferro se instala quando ocorre balanço negativo entre a quantidade de ferro incorporado a partir da dieta e as necessidades de ferro decorrentes de perdas e necessidades fisiológicas. Até que a anemia se manifeste, ocorre a carência de ferro no organismo de forma gradual e progressiva, considerando-se três estágios (CAMASCHELLA, 2015).

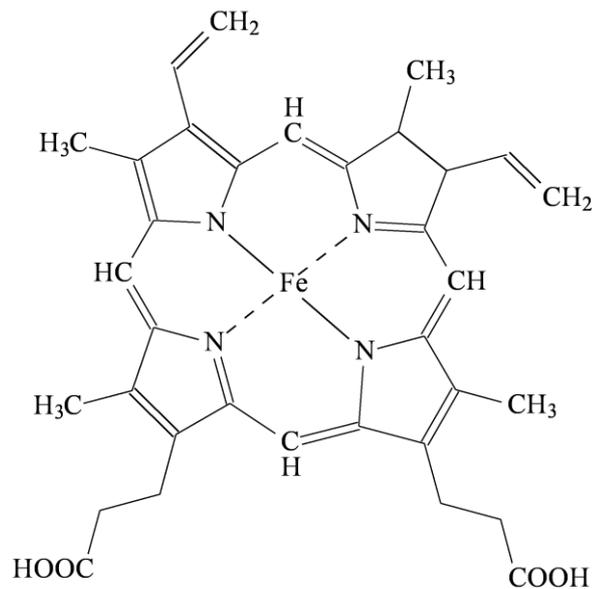


Figura 1: Estrutura química do mineral ferro.

O primeiro estágio para ocorrência de anemia ferropriva, definido como depleção de ferro, afeta os depósitos e representa um período de maior vulnerabilidade em relação ao balanço marginal de ferro, podendo progredir até uma deficiência mais grave, com conseqüências funcionais. As concentrações de Hb se situam dentro da normalidade, mas ocorre diminuição da ferritina sérica (CAMASCHELLA, 2015).

O segundo estágio, a deficiência de ferro, é referido como uma eritropoiese limitada, causada pela insuficiência de ferro para a produção normal de Hb e outros compostos férricos, ainda que a concentração de Hb não esteja reduzida. A progressiva utilização das reservas de ferro leva à redução da saturação da transferrina e dos níveis de ferro sérico. O terceiro e último estágio, a anemia ferropriva, caracteriza-se pela diminuição dos níveis de Hb, com prejuízos funcionais ao organismo, tanto mais graves quanto maior for essa redução e os eritrócitos tornam-se microcíticos e hipocrômicos (CAMASCHELLA, 2015).

Para mulheres em idade fértil a recomendação de ingestão diária é 15 a 18 mg de ferro por dia (IOM, 2000). Alimentos como carnes, fígado, ostras, espinafre, ervilhas e legumes possuem as maiores densidades de ferro (mg/kcal). Entretanto, nem o total de ferro contido no alimento, nem a densidade do nutriente são guias sensíveis para a escolha da fonte alimentar, pois as fontes de origem vegetal são praticamente não disponíveis, o ferro do tipo não heme. A maior parte do ferro contido nos alimentos de origem animal é ferro do tipo é heme, mais biodisponível, tornando as carnes as melhores fontes desse micronutriente. A carne bovina possui 50% do seu teor de ferro na forma heme, cuja biodisponibilidade varia de 15 a 35% (MAFRA & COZZOLINO, 2016).

Mulheres com histórico de quatro ou mais gestações, intervalo de parto curto < 24 meses, situações de insegurança alimentar familiar e a não utilização de suplemento de ferro e ácido fólico durante a última gravidez tem sido apontados como fatores para o aumento na probabilidade de anemia por deficiência de ferro (HABIB, 2018).

A deficiência de ácido fólico é o fator de risco mais importante para os defeitos do tubo neural (FUJIMORI et al., 2013). Os benefícios da suplementação pré-concepcional de ácido fólico incluem a redução na ocorrência de bebês pequenos para a idade gestacional ao nascimento, independente de outros fatores de risco (HODGETTS et al., 2014). A suplementação de ácido fólico no início da gestação reduz em até 75% o risco de o bebê nascer com malformações do tubo neural (BLENCOWE; COUSENS; MODELL; LAWN, 2010). Enquanto que a suplementação de ácido fólico pós-concepção não apresenta efeito significativo sobre as taxas de nascimento de bebês pequenos para a idade gestacional (HODGETTS et al., 2014).

O ácido fólico consiste em uma pterina reduzida ao ácido p-aminobenzoico, formando o ácido pteroico (Figura 2), é uma vitamina hidrossolúvel cuja forma biologicamente ativa é o ácido tetra-hidrofólico (THF), que participa em várias reações de transferência de carbono para a biossíntese de nucleotídeos essenciais para a síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA). O ácido tetra-hidrofólico é adquirido da dieta ou por síntese microbiana no intestino. Boas fontes de ácido fólico são: brócolis, espinafre, ervilhas, grãos, feijão, lentilha, laranja, fígado e gema de ovos (MAFRA & COZZOLINO, 2016).

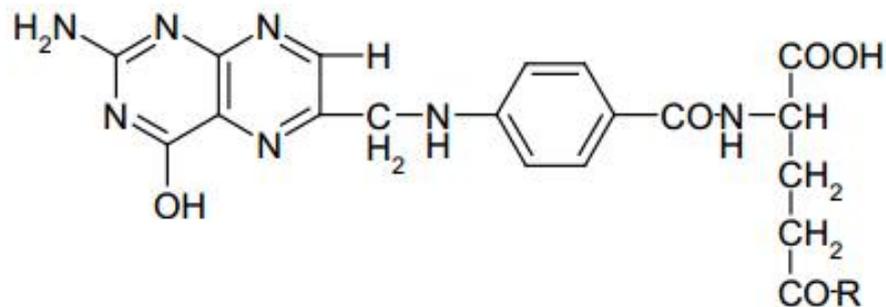


Figura 2: Estrutura química do ácido fólico.

A concentração plasmática de ácido fólico pode ser utilizada para avaliar o consumo alimentar recente, com variações normais entre 3-17ng/mL (USA, 2012). Já o folato intra-eritrocitário representa as reservas teciduais, podendo refletir o consumo médio de folato de quatro meses prévios em virtude da meia-vida destas células. Nos eritrócitos, o folato se encontra na forma de poliglutamatos ligados à Hb cuja concentração é maior comparado ao folato plasmático (MAFRA & COZZOLINO, 2016). Os valores normais de folato intra-eritrocitário variam de 160 a 640 ng/mL e, considera-se que a deficiência está instalada quando os níveis estão abaixo de 140ng/mL (USA, 2012).

O ácido fólico tem um papel fundamental no processo da multiplicação celular, sendo, portanto, imprescindível durante a gravidez, pois interfere com o

aumento dos eritrócitos, o alargamento do útero e o crescimento da placenta e do feto. Sendo também considerado como requisito fundamental para o crescimento normal, na fase fértil (gestação e lactação) e na formação de anticorpos (CRIVELLENTI; BARBIERI; SARTORELLI, 2014).

A partir dessas evidências, a suplementação medicamentosa com ácido fólico no período periconcepcional tem sido recomendada no Brasil desde a década de 90. A partir destas evidências, a Organização Mundial de Saúde e o Ministério da Saúde do Brasil recomendam a dose de 400µg (0,4mg), diariamente, por pelo menos 30 dias antes da concepção até o primeiro trimestre de gestação para prevenir os defeitos do tubo neural e durante toda a gestação para prevenção da anemia (WHO, 2013; BRASIL, 2013). Para as mulheres com antecedentes de malformações congênicas o Ministério da Saúde do Brasil recomenda a dose de 5 mg/dia a fim de reduzir o risco de recorrência de malformação (BRASIL, 2012).

Já em relação ao sulfato ferroso, a indicação é que se utilize a partir do 2º trimestre até o 3º mês pós-parto. A dosagem do ferro depende da presença ou não de anemia, variando entre 40 mg/dia até 240 mg/dia. Toda essa medicação é distribuída gratuitamente nas Farmácias da Família e nas Unidades Básicas de Saúde da Família (BRASIL, 2013).

Todavia, apesar da distribuição gratuita, existe uma baixa aderência à suplementação medicamentosa, associada a efeitos colaterais gastrointestinais, sobretudo à diarreia (MACHADO et al., 2011). Além disso, a baixa escolaridade materna e fatores como a falta de planejamento da gravidez prejudicam a suplementação desde o período pré-concepcional (NIQUINI et al., 2016).

Diante dessa situação e, a exemplo do que ocorreu em diversos países, como Chile, Reino Unido, Canadá e Estados Unidos, o Ministério da Saúde do Brasil

deliberou e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) abriu consulta pública para discutir a fortificação de farinhas com micronutrientes e estabeleceu a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico, com o intuito de diminuir a prevalência de anemia materna e defeitos no tubo neural (ANVISA, 2002).

Em 13 de dezembro de 2002, através da Resolução – RDC nº 344 (DOU de 18/12/2002), a ANVISA aprovou o Regulamento Técnico para Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico, tornando obrigatória a referida fortificação em todos os estados do Brasil, dando um prazo de 18 meses, para que as empresas produtoras destes alimentos promovessem a adequação de seus produtos (ANVISA, 2002).

Na aprovação do referido regulamento, a ANVISA considerou diversos fatores: a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de prevenção e controle sanitário na área de alimentos, visando a saúde da população; as recomendações da Organização Mundial de Saúde e Organização Panamericana da Saúde, de fortificação de produtos alimentícios com ferro e ácido fólico; o fato de que a anemia ferropriva representa um problema nutricional importante no Brasil, com severas consequências econômicas e sociais; a redução do risco de patologias do tubo neural, como a mielomeningocele, através do consumo do ácido fólico e o largo consumo das farinhas de trigo e de milho pela população brasileira (ANVISA, 2002).

As farinhas de trigo e de milho foram eleitas por serem produzidas e consumidas em larga escala e sem restrições de consumo em diversas preparações pelas diferentes regiões ou classes sociais do Brasil. A adição do ácido fólico às farinhas não altera o sabor, composição ou preço do produto (ANVISA, 2002).

Em 1998, a Food and Drug Administration, nos Estados Unidos, determinou que cereais manufaturados (farinha, arroz, pães, macarrão entre outros) fossem enriquecidos com ácido fólico na concentração de 0,14 mg/100g de produto. A fortificação deveria ser feita com a forma sintética do folato, que é mais biodisponível que o folato encontrado naturalmente nos alimentos (FDA, 1996).

No Canadá, muitas mulheres não recebiam suplementos de ácido fólico antes da concepção, por isso, em 1998, a maioria dos cereais foi fortificada com ácido fólico, promovendo um adicional de 0,1 - 0,2 mg/dia de folato para a população do Canadá (RAY et al., 2002). O programa de fortificação no Canadá estabeleceu 0,15 mg/100g de farinha e este nível de fortificação com folato foi estimado para reduzir a incidência de defeitos no tubo neural em aproximadamente 22% (RAY et al., 2002).

No Chile, a farinha de trigo era fortificada com ferro e vitaminas do complexo B pela legislação desde 1950 e em janeiro de 2000, o Ministério da Saúde chileno estabeleceu a adição de 0,22 mg de ácido fólico por 100 g de produto. O resultado esperado por essa política é que as mulheres em idade fértil consumam a quantidade recomendada de folato em torno de 0,4mg/dia (HERTRAMPF; CORTÉS, 2004).

O Regulamento Técnico para Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico no Brasil tem o seguinte princípio geral: “É obrigatória a adição de ferro e ácido fólico nas farinhas de trigo e nas farinhas de milho pré-embaladas na ausência do cliente e prontas para oferta ao consumidor, as destinadas ao uso industrial, incluindo as de panificação e as farinhas adicionadas nas pré-misturas, devendo cada 100 g de farinha de trigo e de farinha de milho fornecerem no mínimo 4,2 mg de ferro e 150 µg de ácido fólico” (ANVISA, 2002).

Este teor de ácido fólico é comparável ao americano e canadense (0,14 mg e 0,15 mg, respectivamente), porém bastante inferior ao chileno (0,22 mg).

A redução na prevalência de anemia e de defeitos no tubo neural após a fortificação de alimentos com ácido fólico e ferro, já vem sendo evidenciada em diversos países (CALVO; BIGLIERI, 2008; BLENCOWE et al., 2010; ARGÜELLO; SOLÍS, 2011; CRIDER; BAILEY; BERRY, 2011) e também no Brasil (ARAÚJO et al., 2013; FUJIMORI et al., 2013).

Honein et al. (2001) observaram redução de 19% na prevalência de defeitos no tubo neural, nos Estados Unidos, um ano após a instituição da medida de fortificação alimentar com ácido fólico. Na Costa Rica, a fortificação de alimentos com ácido fólico promoveu uma redução na ocorrência de defeitos no tubo neural de 12 / 10.000 nascidos vivos (IC95%: 11,1 - 12,8) para 5,1 / 10.000 nascidos vivos (IC95%: 3,3 - 6,5) durante o período de 1997-2009 (ARGÜELLO; SOLÍS, 2011).

Fujimori et al. (2013), encontraram redução significativa na prevalência total de defeitos no tubo neural no Estado de São Paulo 4 anos após a fortificação obrigatória das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico, especificamente nas prevalências de espinha bífida e anencefalia.

Avaliando os níveis de Hb e a prevalência de anemia em gestantes no Paraná, antes e após a fortificação das farinhas com ferro e ácido fólico, Araújo et al. (2013) encontraram menor frequência de anemia no grupo após a fortificação obrigatória das farinhas (9,3%), em relação ao grupo antes da fortificação (12,3%). No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa. Após ajuste para potenciais variáveis de confusão, constataram que as gestantes do grupo pós a fortificação das farinhas apresentavam concentração média de Hb de 0,17g/dL, maior do que as do grupo antes da fortificação obrigatória.

Todavia, ainda são necessários mais estudos, avaliando o efeito da adição de ferro e ácido fólico nos alimentos em um número maior de municípios, verificando o nível de consumo dos produtos fortificados por mulheres em idade fértil, além da ocorrência associada de outras carências que são causadoras de malformações do tubo neural, como por exemplo, a deficiência de vitamina B12. O déficit de vitamina B12 em gestantes também aumenta o risco de malformação fetal ocasionando defeitos no tubo neural, que constitui uma das mais comuns alterações congênitas (GUÉANT-RODRIGUEZ et al., 2003).

O termo vitamina B12 refere-se à família de substâncias compostas de anéis tetrapirrol ao redor de um átomo central de cobalto com um nucleotídeo unido a esse átomo. É a única entre todas as vitaminas que contém não só uma molécula orgânica complexa, mas também um elemento traço essencial, o cobalto (MAFRA & COZZOLINO, 2016).

A cianocobalamina foi a primeira forma na qual a vitamina B12 foi isolada, não sendo um importante vitâmero de ocorrência natural. Entretanto, a cianocobalamina (Figura 3) é mais estável à luz que outras formas dessa vitamina e, portanto, comumente utilizada em preparações farmacêuticas. A forma predominante no soro é a metilcobalamina e no citosol é a deoxiadenosilcobalamina. Alimentos de origem animal são as únicas fontes naturais de vitamina B12, tais como: carnes, fígado, peixes, ovos e produtos lácteos. O fígado é o principal local de armazenamento das reservas corporais de vitamina B12 (MAFRA & COZZOLINO, 2016).

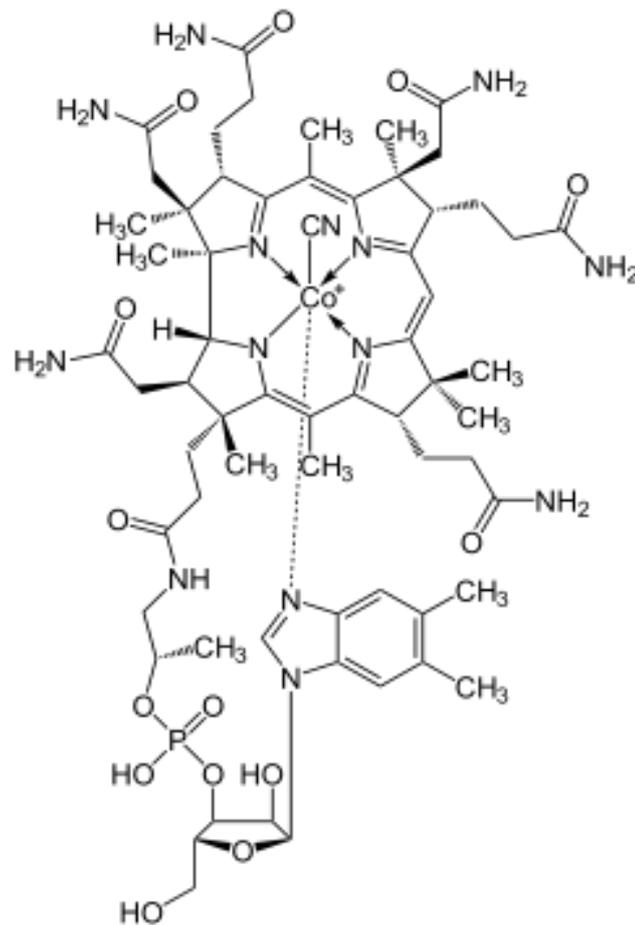


Figura 3: Estrutura química da vitamina B12 (cianocobalamina).

Concentrações séricas adequadas de vitamina B12 são valores acima de 200 pg/mL (USA, 2012). A deficiência assintomática de vitamina B12 pode ocorrer por longos períodos antes do aparecimento de qualquer sinal ou sintoma clínico, desencadeando uma deficiência crônica de vitamina B12 que, se mantida durante anos, pode levar a manifestações neuropsiquiátricas irreversíveis (CARMEL, 2002).

A recomendação de ingestão diária de vitamina B12 para mulheres em idade fértil é 2,4µg/dia, sendo este valor aumentado para 2,6µg/dia durante o período gestacional. Devido à ausência de dados a respeito de efeitos adversos neste grupo etário o nível máximo de ingestão tolerável desta vitamina ainda não foi determinado (IOM, 2000).

As alterações hematológicas típicas da deficiência de vitamina B12 são caracterizadas por diminuição de Hb, ocasionando anemia, que tem como um dos principais aspectos a presença de macroovalócitos, neutrófilos hiper-segmentados e hiperplasticidade na medula óssea com maturação anormal, representando uma anemia megaloblástica (REFSUN et al., 2001).

A identificação da deficiência de vitamina B12 é importante devido ao inapropriado tratamento com ácido fólico, que corrige os sinais hematológicos, mascarando a deficiência dessa vitamina, propiciando o desenvolvimento de sintomas neurológicos (CARMEL et al., 2003) através de provável aceleração da desmielinização neuronal e permitindo progressivos e irreversíveis danos neurológicos (CARMEL et al., 2003).

São escassos os estudos que abordam a carência de vitamina B12 em mulheres em idade fértil e os programas de suplementação alimentar não incluem esta vitamina. Estudos brasileiros realizados em mulheres grávidas como o de Thame et al. (1998), que avaliaram gestantes da cidade de São Paulo, após a confirmação de malformações do tubo neural em seus fetos, encontraram 11,8% de deficiência de vitamina B12 e nenhum caso de deficiência de folato. Giugliani et al. (1984) diagnosticaram, em mulheres em trabalho de parto em Porto Alegre, 5,9% de deficiência de ácido fólico e 21,9% de deficiência de vitamina B12. Um estudo caso-controle, de base populacional, realizado no Canadá, apresentou uma chance quase três vezes maior para defeitos do tubo neural na presença de baixo nível de vitamina B12 materna.

Diante do exposto e tendo em vista a importância como evento epidemiológico, a anemia e a deficiência de vitamina B12 sérica e folato intracitoplasmático configuram um problema com impacto socioeconômico que pode

interferir negativamente, em todos os estágios da vida, no funcionamento cognitivo e na capacidade física. Em pessoas produtivas, a anemia pode reduzir o rendimento no trabalho em 30%, não favorecendo o desenvolvimento de um país com elevadas prevalências de anemias na população (WHO, 2001). Portanto, há necessidade de informações sobre a magnitude das concentrações séricas de vitamina B12, folato intra-eritrocitário e Hb e possíveis fatores associados à sua ocorrência em mulheres em idade fértil.

5 MÉTODOS

5.1 Desenho, casuística e local do estudo

Este estudo representa um recorte da pesquisa: “Impacto do Consumo de Farinhas de Trigo e Milho Fortificadas com Ferro e Ácido Fólico sobre as Concentrações de Folato Intra-eritrocitário de Mulheres em Idade Reprodutiva e na Incidência de Defeitos de Fechamento do Tubo Neural em Recém-nascidos na Cidade de Recife”, realizado no período de outubro de 2007 a julho de 2008, viabilizado mediante convênio (nº 401893/2005-7) com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Trata-se de um delineamento transversal, com uma amostra aleatória de mulheres atendidas em um ambulatório de ginecologia no distrito sanitário VI da cidade de Recife/PE, da rede municipal do Sistema Único de Saúde (SUS).

5.2 Amostragem

O tamanho amostral foi calculado pela fórmula (HENDERSON & SUNDARESAN, 1982): $n = \{[z^2 \times p \times (100 - p) \times c] / d^2\}$, tomando-se como base os pressupostos de uma prevalência (p) de anemia megaloblástica de 8,0%, baseada em dados do estudo piloto [n= 30], com variabilidade (d) de 2,4% e confiabilidade de 95% (z). Uma vez que a seleção da amostra não foi aleatória simples, mas por conglomerado, foi utilizada uma correção do efeito do desenho (c) de 2,1. Dessa forma, o tamanho amostral mínimo foi de 1031 mulheres. No sentido de corrigir eventuais perdas, fez-se um acréscimo de 17% [100/(100-17)], resultando numa amostra de 1210 mulheres.

Foram avaliadas mulheres com idade entre 15 e 45 anos e adotados os seguintes critérios de exclusão: alterações menstruais do tipo hipermenorragia (> 80 mL de perdas menstruais por ciclo) ou hipermenorréia (> 8 dias de perdas menstruais por ciclo); portadoras de patologias hematológicas (anemia falciforme), endócrinas (diabetes *mellitus*, distireoidismos ou distúrbios hormonais de crescimento) ou auto-imunes (lúpus e outras doenças que requerem dieta especial e/ou uso de drogas para controle da patologia); usuárias de drogas que interferem no metabolismo dos folatos: aminopterina, metotrexato, trimetropim, pirimetamina e sulfassalazina e outras (nos últimos 12 meses); gestantes, lactantes ou pacientes que tiveram o último parto ou abortamento nos últimos 12 meses; usuárias de suplementos vitamínicos contendo ferro, ácido fólico ou vitamina B nos 12 meses anteriores à pesquisa.

5.3 Variáveis de análise

As mulheres foram esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A). Foi aplicado um questionário pré-codificado que abordava variáveis sócio-econômicas e demográficas (APÊNDICE B), um questionário de frequência alimentar (QFA) (APÊNDICE C) para avaliar o consumo alimentar e realizada a avaliação antropométrica com coleta das medidas de peso e altura. Em seguida, foram encaminhadas à avaliação laboratorial, onde procedeu-se então o rastreamento das concentrações de folato intra-eritrocitário, de vitamina B12 sérica e de Hb.

5.4 Procedimentos e técnicas de avaliação

5.4.1 Avaliação laboratorial

As concentrações de folato intra-eritrocitário e de vitamina B12 sérica foram analisadas por imunoensaio, pela técnica de eletroquimioluminescência, em equipamento automático Elecsys® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), utilizando os kits de teste Folate II e Vitamin B12 (Elecsys and cobas analyzers, Roche Diagnostics). As concentrações de Hb foram mensuradas pela determinação automatizada, utilizando o analisador hematológico Sysmex XT-1800i® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Foram consideradas inadequadas as concentrações séricas de vitamina B12 < 200 pg/mL (USA, 2012), do folato intra-eritrocitário < 140 ng/mL (USA, 2012) e de Hb < 12g/dL (WHO, 2001).

5.4.2 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada no momento da entrevista e a tomadas das medidas de peso e altura sendo realizadas em duplicata e obedecendo aos procedimentos descritos a seguir:

- **Peso**

O peso das mulheres foi obtido utilizando-se balança digital (Modelo MEA-03200/Plenna), com capacidade de 150 kg e escala de 100 gramas, com o indivíduo descalço e indumentária mínima.

- **Altura**

A altura foi determinada com estadiômetro portátil (Alturaexata, Ltda) - milimetrada, com precisão de até (1 mm) em toda a sua extensão. As entrevistadas eram colocadas em posição ereta, descalças, com membros superiores pendentes

ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a coluna de madeira.

As leituras de peso e altura eram repassadas pelo entrevistador, em voz alta, e registrada em formulário específico por outro entrevistador, que repetia os valores, também em voz alta, antes de registrá-los, para evitar possíveis erros no repasse das informações. Para garantir a acurácia das mensurações foram aferidas duas medidas de peso e altura e quando a diferença entre as avaliações excediam 0,5cm para altura e 100g para o peso, repetia-se a mensuração e anotavam-se as duas medições com valores mais próximos, utilizando a média dessas para efeito de registro.

Para classificação do estado nutricional das mulheres, utilizou-se o Índice de Massa Corporal (IMC), determinado pela relação peso (Kg)/altura² (metros), sendo a curva de IMC por idade utilizada nas mulheres com idade entre 15 e 19 anos, recomendada pela OMS (ONIS et al., 2007) nas mulheres com idade a partir de 19 anos foram utilizados os limites de corte recomendados pela OMS (OMS, 1998): baixo peso: $IMC < 18,5\text{kg/m}^2$; eutrofia: $IMC \geq 18,5\text{kg/m}^2$ e $\leq 24,9\text{kg/m}^2$; sobrepeso: $IMC \geq 25,0\text{kg/m}^2$ e $\leq 29,9\text{kg/m}^2$ e obesidade: $\geq 30,0\text{kg/m}^2$.

5.4.3 Avaliação dietética

Em uma subamostra das 1210 mulheres foi aplicado um questionário de frequência de alimentar (QFA) (APÊNDICE A) quantitativo, previamente validado por Salas et al. (2003). O cálculo do tamanho amostral para aplicar o QFA, tomou como base os pressupostos de uma prevalência de inadequação do consumo de folato da ordem de 20% (dados do estudo piloto), com uma margem de erro de 4% e uma confiabilidade de 95%, sendo estimada uma amostra mínima de 385 mulheres,

utilizando-se a fórmula (HENDERSON & SUNDARESAN): $n = \{[Z_{\alpha/2}^2 \times p \times (100 - p)] / d^2\}$. No sentido de corrigir eventuais perdas, foi feito um acréscimo de 10% $[100/(100/10)]$, resultando em 424 mulheres avaliadas.

O QFA foi aplicado com o auxílio de um álbum com fotos coloridas de utensílios e alimentos, elaborados especificamente para a pesquisa, baseados em Monteiro et al. (2007) e Barros Filho (1996), objetivando uma melhor precisão das quantidades ingeridas. Os resultados foram transformados em gramas utilizando as tabelas de Pinheiro (2004) e Fisberg (2002). O valor energético da dieta e o consumo de proteínas, fibras, ferro, ácido fólico, vitamina C, cálcio e zinco foram analisados no programa DietSys software, versão 4.0., o programa não avalia vitamina B12.

5.5 Processamento e análise dos dados

A base de dados foi compilada no programa Epi Info versão 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, U.S.A.), com dupla entrada e uso do módulo “validate” para identificar e corrigir eventuais inconsistências no processo de digitação. Para as análises estatísticas, foi empregado o pacote estatístico SPSS versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Inicialmente, as variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Apenas as concentrações de folato intra-eritrocitário apresentaram distribuição gaussiana. As concentrações de Hb e vitamina B12 sofreram transformações logarítmicas (ln) e foram retestadas; contudo, apenas as concentrações de vitamina B12 apresentaram normalidade na sua curva de distribuição, sendo descritas pela média geométrica e intervalo de confiança. O valor calórico da dieta, o consumo alimentar de proteínas,

ferro e ácido fólico não apresentaram distribuição gaussiana e, mesmo após a transformação logarítmica, apenas o consumo alimentar de proteínas apresentou distribuição normal. As concentrações de Hb das 424 mulheres que responderam ao QFA apresentaram distribuição gaussiana.

Quando os critérios de normalidade e homocedasticidade foram atendidos, as médias foram comparadas pelo teste *t* de *student* para dados não pareados (2 médias) e Anova *one-way* (> 2 médias), utilizando-se como teste *a posteriori*, o teste de comparações múltiplas de Bonferroni; quando esses critérios não foram atingidos, foram utilizados os testes “U” de Mann Whitney (2 medianas) e o de Kruskal Wallis (> 2 medianas), com o teste “U” de Mann Whitney *a posteriori*. A distribuição das concentrações de folato intra-eritrocitário e de vitamina B12 (após a transformação logarítmica), apesar de terem atendido ao critério de normalidade, não apresentaram homogeneidade da variância quando avaliadas as concentrações folato intra-eritrocitário, de acordo com a idade e o IMC das mulheres e, as concentrações de vitamina B12 de acordo com o número de pessoas por domicílio. Logo, foram descritas pela mediana e os respectivos percentis 25 e 75.

A associação entre o consumo alimentar de ácido fólico, ferro e proteínas com as concentrações de folato intra-eritrocitário, de Hb e de vitamina B12 foi avaliada pela correlação de Pearson, considerando que pelo menos uma das variáveis apresentou distribuição normal. As proporções foram descritas procedendo-se uma aproximação da distribuição normal à distribuição binomial pelo intervalo de confiança de 95%. Foi utilizado o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

5.6 Aspectos éticos

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e registrado no Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sob o nº 907, em 15 de dezembro de 2006 (ANEXO A). Os pesquisadores realizaram palestras periodicamente para as mulheres entrevistadas, com orientações sobre alimentação saudável e, para as que apresentaram consumo inadequado de algum nutriente, foi feito o encaminhamento para consulta com atendimento individualizado pelo nutricionista na rede municipal do SUS de Recife.

6 RESULTADOS

Das 1210 mulheres que atenderam aos critérios de inclusão, houve 34 perdas na determinação das concentrações de Hb, 39 de folato intra-eritrocitário e 54 de vitamina B12. Essas perdas foram causadas, principalmente, pela recusa à punção venosa, pelo volume insuficiente de sangue para as análises bioquímicas, bem como aquelas inerentes ao próprio processo de análise laboratorial. A amostra apresentou uma mediana de 30 anos de idade ($P_{25-75} = 24 - 38$), 2 gestações ($P_{25-75} = 1 - 3$), 4 pessoas residindo por domicílio ($P_{25-75} = 3 - 5$), renda familiar de R\$ 510,00 ($P_{25-75} = R\$ 380,00 - 830,00$), 5,9% apresentaram baixo peso (IMC < 18,5Kg/m²) e quase metade (45,1%) apresentaram excesso de peso, sendo 28,3% com sobrepeso (IMC $\geq 25,0$ kg/m² e $\leq 29,9$ kg/m²) e 17,6% obesidade (IMC $\geq 30,0$ kg/m²) e a maioria (53,9%) não trabalhava fora de casa.

Reduções nas concentrações de Hb foram encontradas em 141 mulheres (12,0%, IC_{95%}: 10,3 - 13,9), de vitamina B12 sérica em 81 mulheres (7,0%, IC_{95%}: 5,7 - 8,6) e apenas 1 mulher apresentou redução nas concentrações de folato intra-eritrocitário. Nenhuma mulher apresentou redução concomitante nas concentrações de folato intra-eritrocitário, vitamina B12 sérica e de Hb. Entretanto, 13 mulheres (1,1%, IC_{95%}: 0,6 - 1,9) apresentaram carência concomitante de Hb e vitamina B12.

Conforme pode ser observado na tabela 1, as concentrações de folato intra-eritrocitário foram maiores nas mulheres de maior faixa etária e naquelas com os maiores valores de renda familiar. As concentrações de Hb foram menores nas mulheres que fumavam, quando comparadas com as não fumantes. As concentrações séricas de vitamina B12 não apresentaram variação significativa em

função dos parâmetros sócio-econômicos, demográficos e antropométricos avaliados.

Referente ao consumo alimentar, das 424 mulheres que atenderam aos critérios de inclusão e responderam ao QFA, 4 foram excluídas por inconsistência dos dados. A mediana das calorias ingeridas foi de 2764,7 Kcal/dia ($P_{25-75} = 2083,0 - 3703,4$), de proteínas 82,3 g/dia ($P_{25-75} = 63,7 - 107,8$ g/dia), de ferro 18,7 mg/dia ($P_{25-75} = 13,8 - 25,4$), de vitamina C 515,3 mg/dia ($P_{25-75} = 191,1 - 1195,8$), de ácido fólico 553,7 μg ($P_{25-75} = 434,6 - 731,7$) e de fibras 33,3 g/dia ($P_{25-75} = 24,3 - 46,3$). A ingestão média de cálcio foi de 581,5 + 264,5 mg/dia e de zinco 13,6 + 5,7 mg/dia.

Conforme pode ser observado na tabela 2, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre a ingestão de calorias e de nutrientes ajustados pelo consumo calórico, segundo o IMC e o número de pessoas no domicílio. No entanto, o maior consumo de ferro foi verificado entre as mulheres mais jovens, enquanto o consumo de fibras foi mais elevado nas mulheres de maior faixa etária. Quanto à renda, constatou-se maior consumo de vitamina C nas mulheres com os menores valores de renda familiar. Por sua vez, o consumo calórico e de cálcio foi maior nas mulheres com renda mais elevada, e o consumo de cálcio também foi maior entre aquelas com escolaridade mais elevada (Tabela 2).

O consumo de ferro e de fibra, quando ajustado de acordo com a idade e a renda familiar, mostrou diferença estatisticamente significativa entre as mulheres de maior faixa etária. As mulheres na faixa etária mais elevada e com menor renda apresentaram menor consumo de ferro e de fibras, quando comparadas com aquelas de maior renda. (Tabela 3). O consumo de ferro apresentou uma correlação fortemente positiva com o consumo de ácido fólico, de proteínas, de fibras, de cálcio

e de zinco, embora, essa correlação tenha se mostrado discreta com o consumo de vitamina C (Tabela 4).

A correlação entre as concentrações de folato intra-eritrocitário com o consumo alimentar de ácido fólico sugere uma associação fraca, porém significativa (Figura 1). Por outro lado, a correlação envolvendo as variáveis concentrações de Hb com o consumo alimentar de ferro e de proteínas e as concentrações séricas de vitamina B12 com o consumo alimentar de proteínas não mostrou associação estatisticamente significativa (Figura 4).

Tabela 1: Concentrações de folato intra-eritrocitário, de vitamina B12 sérica e de hemoglobina, segundo variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas, em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.

	Folato intra-eritrocitário		Vitamina B12		Hemoglobina	
Idade (anos)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
15 - 19	126	651 (540 - 746)	127	365 (330 - 403)	127	13,0 (12,5 - 13,5)
20 - 45	1045	713 (593 - 827)	1029	365 (365 - 403)	1049	13,0 (12,5 - 13,6)
p		0,00*		0,102***		0,633*
Número de pessoas no domicílio	n	\bar{X} (dp)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
1 - 3	422	703 (181)	418	389 (282 - 512)	424	13,0 (12,5 - 13,7)
4 - 7	685	707 (181)	674	399 (298 - 521)	689	13,0 (12,4 - 13,6)
8 - 14	61	693 (162)	62	398 (312 - 494)	61	13,0 (12,4 - 13,9)
p		0,528**		0,397*		0,417*
Renda familiar (R\$)	n	\bar{X} (dp)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
< 400,0	294	691 (183) ^b	288	365 (365 - 403)	295	13,0 (12,5 - 13,6)
400,0 - 760,0	500	696 (183) ^b	492	365 (365 - 403)	501	13,0 (12,5 - 13,6)
> 760,0	369	739 (169) ^a	368	365 (365 - 403)	372	13,0 (12,5 - 13,7)
p		0,001**		0,929**		0,439*
Escolaridade	n	\bar{X} (dp)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Até ensino fundamental	748	705 (184)	738	403 (365 - 403)	751	13,0 (12,5 - 13,6)
Ensino médio e superior	410	703 (173)	406	365 (365 - 403)	412	13,1 (12,4 - 13,6)
p		0,867***		0,147***		0,582*
Filho portador de malformação fetal	n	\bar{X} (dp)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Sim	35	719 (179)	36	403 (365 - 446)	36	13,0 (12,6 - 13,6)
Não	886	716 (182)	869	403 (365 - 403)	889	13,0 (12,5 - 13,6)
p		0,928***		0,604***		0,667*
Hábito de fumar	n	\bar{X} (dp)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Sim	123	682 (181)	120	403 (365 - 403)	123	13,0 (12,4 - 13,6)
Não	1044	708 (180)	1032	403 (365 - 403)	1049	13,4 (12,8 - 13,9)
p		0,130***		0,838***		0,000*
IMC	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Baixo peso	69	679 (595 - 785)	70	403 (365 - 446)	70	12,9 (12,4 - 13,5)
Eutrofia	569	698 (585 - 818)	562	365 (365 - 403)	572	13,0 (12,4 - 13,6)
Sobrepeso	330	712 (577 - 826)	325	403 (365 - 403)	331	13,0 (12,5 - 13,6)
Obesidade	196	726 (607 - 827)	192	403 (365 - 403)	196	13,1 (12,5 - 13,7)
p		0,484*		0,143**		0,319*

* Teste de Kruskal Wallis. ** Anova one-way. Teste de *Bonferroni a posteriori*. *** Teste *t* de *Student* para dados não pareados. \bar{X} = média, dp = desvio padrão, Med = mediana, P₂₅₋₇₅ = percentis 25 e 75, MG = média geométrica, IC_{95%} = Intervalo de confiança de 95%. ^{a, b} Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa entre as categorias.

Número de pessoas no domicílio	n	Med (Pars)	Med (Pars)	Med (Pars)	Med (Pars)	Med (Pars)	Med (Pars)	Med (Pars)	MG (Cox)	MG (Cox)
1 - 3	151	2852 (2079 - 3738)	33,0 (26,0 - 38,0)	7,5 (6,0 - 8,4)	217,8 (160,0 - 258,2)	212,6 (99,0 - 416,4)	12,8 (9,3 - 17,1)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (11,0 - 13,5)	
4 - 7	249	2717 (2096 - 3663)	31,9 (25,4 - 38,2)	7,6 (6,1 - 8,7)	221,1 (170,2 - 268,2)	192,4 (60,2 - 463,4)	12,6 (9,5 - 15,5)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (12,2 - 13,5)	
8 - 14	20	2529 (2011 - 3780)	32,1 (28,7 - 37,6)	8,1 (7,0 - 9,1)	236,2 (204,5 - 275,2)	272,3 (84,9 - 407,2)	15,1 (11,3 - 18,6)	492,7 (403,4 - 601,8)	13,5 (11,0 - 14,9)	
p_{post}		0,86	0,94	0,11	0,17	0,81	0,17	0,31	0,79	
MG (Kg/m²)										
< 18,5	22	3335 (2181 - 3705)	32,6 (28,5 - 37,5)	8,3 (7,3 - 9,3)	224,7 (193,8 - 270,1)	307,9 (93,7 - 587,5)	14,2 (11,6 - 18,1)	601,8 (492,7 - 735,1)	13,5 (12,2 - 16,4)	
18,5 - 24,9	207	2717 (2096 - 3738)	33,0 (26,8 - 37,4)	7,7 (6,2 - 8,5)	220,9 (171,8 - 266,9)	212,6 (60,6 - 439,2)	12,9 (10,2 - 16,6)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (12,2 - 13,5)	
25 - 29,9	117	2915 (2089 - 3864)	32,2 (25,6 - 39,1)	7,5 (6,0 - 8,5)	224,3 (169,4 - 282,9)	227,5 (59,6 - 417,0)	12,6 (8,9 - 16,0)	492,7 (445,9 - 544,8)	12,2 (11,0 - 13,5)	
≥ 30	74	2818 (2018 - 3710)	30,6 (20,2 - 39,0)	7,5 (4,6 - 8,5)	217,4 (153,4 - 280,6)	127,5 (46,7 - 402,6)	12,3 (9,2 - 15,6)	492,7 (445,9 - 544,8)	12,2 (11,0 - 13,5)	
p_{post}		0,77	0,83	0,82	0,87	0,30	0,26	0,41	0,34	

* Teste de Kruskal Wallis. Teste 'U' de Mann Whitney **a posteriori**. ** **ANOVA** one-way. Teste **Bonferroni** a posteriori. * Teste t-Student para dados não pareados. † Teste de Kruskal Wallis. Med = mediana, Pars = percentis 25 e 75, MG = média geométrica, Cox = intervalo de confiança.

Tabela 3: Consumo de ferro e de fibra ajustado pela renda familiar e a idade em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.

Idade (anos)	Renda familiar (R\$)	n	Ferro (mg)			Fibra (g)		
			Med	P ₂₅ - P ₇₅	p*	Med	P ₂₅ - P ₇₅	p*
15 - 18	< 400,00	10	22,9	16,4 - 33,7		33,2	23,1 - 55,4	
	400,01 - 760,00	07	25,4	18,4 - 32,0	0,65	33,2	28,8 - 43,6	0,39
	> 760,00	08	22,6	18,9 - 35,0		35,9	20,6 - 48,0	
19 - 30	< 400,00	65	18,5	15,3 - 25,4		32,3	24,6 - 48,8	
	400,01 - 760,00	67	20,9	16,0 - 29,3	0,40	34,3	24,1 - 45,9	0,15
	> 760,00	52	18,6	13,8 - 27,9		30,7	23,9 - 39,8	
31 - 45	< 400,00	70	16,4 ^a	13,0 - 21,8		32,1 ^b	23,8 - 42,2	
	400,01 - 760,00	73	17,4	12,7 - 23,6	0,01*	34,3 ^b	25,0 - 43,7	0,01*
	> 760,00	68	18,2 ^b	13,8 - 23,6		37,6 ^a	24,6 - 51,8	

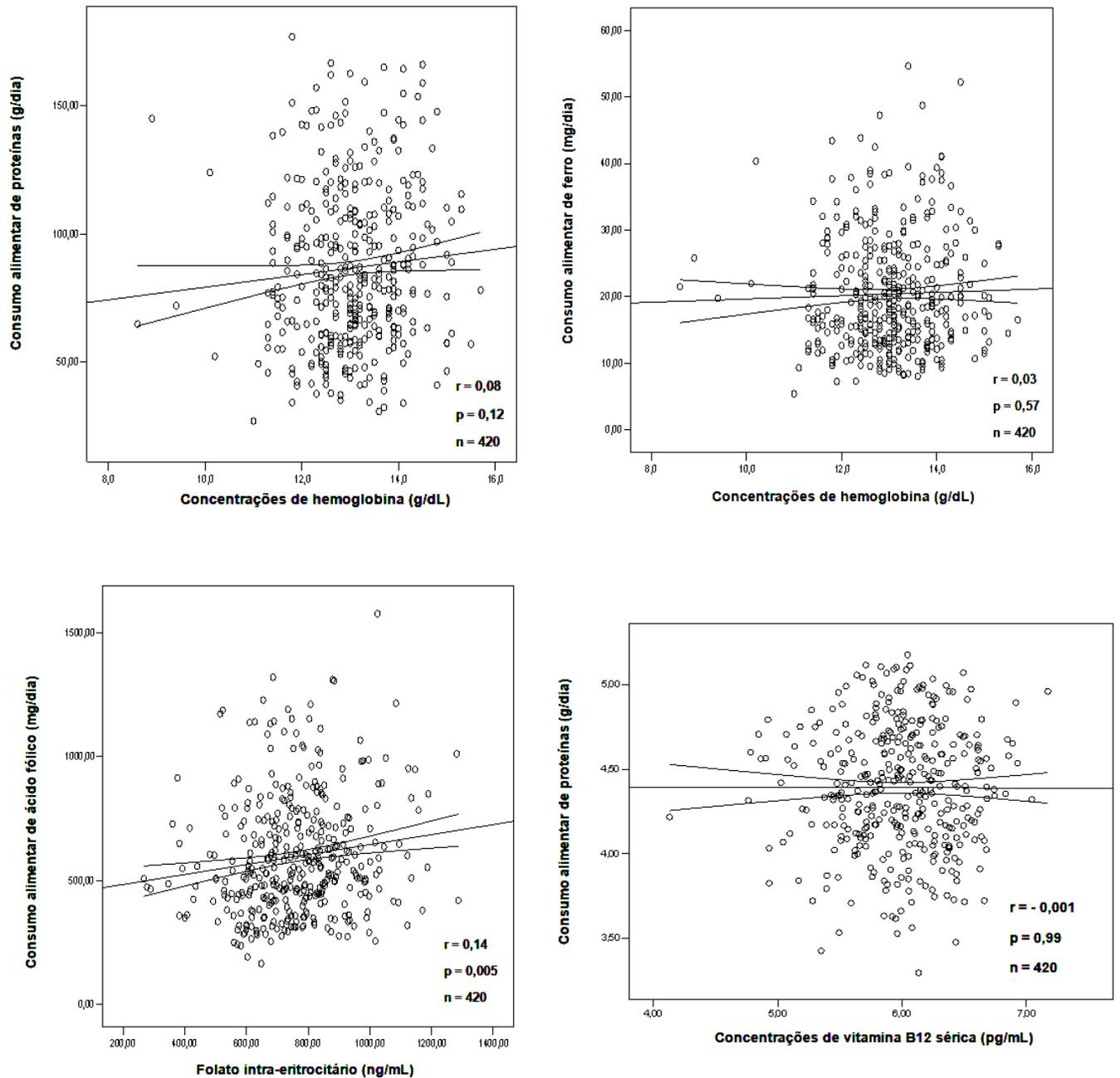
* Teste de Kruskal Wallis. Teste "U" de Mann Whitney a posteriori. ^{a,b} Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante entre as categorias. Med = mediana, P₂₅₋₇₅ = percentis 25 e 75.

Tabela 4: Correlação entre o consumo de ferro com ácido fólico e com nutrientes potencialmente facilitadores e inibidores da sua absorção em mulheres em idade fértil, Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.

Nutrientes	r_{ho}	IC95% ^{***}	p^*
Ácido Fólico (μ g)	0,821	0,78 - 0,86	0,00
Facilitadores da absorção de ferro			
Vitamina C (mg)	0,285	0,24 - 0,32	0,00
Proteína (g)	0,817	0,78 - 0,86	0,00
Inibidores da absorção de ferro			
Calcio (mg)	0,523	0,50 - 0,54	0,00 ^{**}
Zinco (mg)	0,695	0,64 - 0,76	0,00 ^{**}
Fibra (g)	0,624	0,57 - 0,67	0,00

* Correlação de Spearman. ** Correlação de Pearson. *** Intervalo de confiança de 95%.

Figura 4: Correlação de Pearson entre o consumo alimentar de ácido fólico, ferro e proteínas com as concentrações de folato intra-eritrocitário, de hemoglobina e de vitamina B12 sérica em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.



7 DISCUSSÃO

O perfil da amostra estudada, constituído, em sua maioria, por mulheres adultas jovens, que apresentaram baixa escolaridade, baixa renda familiar e residiam com mais de 4 pessoas no domicílio é sugestivo de uma população com acessibilidade limitada a alimentação adequada, mesmo entre as que apresentam elevado consumo calórico, existe escassez na diversidade do consumo de micronutrientes e elementos traços, que constitui um fator de risco para deficiências nutricionais, sobretudo se essas mulheres passarem pelo período gestacional. Com um estudo realizado no mesmo espaço geográfico da nossa pesquisa, Demétrio (2017) evidenciou maior prevalência de carências nutricionais, entre as gestantes que estavam em situação de insegurança alimentar, 21,8% das gestantes avaliadas estavam anêmicas.

É considerada leve a prevalência de anemia encontrada em nossa casuística (12%), de acordo com a OMS (WHO, 2001) que apresenta uma proposta de classificação da anemia de importância para a saúde pública em populações baseada na prevalência dos níveis sanguíneos de Hb, considerando como normal ou aceitável a prevalência de anemia abaixo de 5%, leve de 5 a 19,9%, moderada de 20 a 39,9% e grave $\geq 40\%$ (WHO, 2001).

Costa et al. (2013), estudando uma amostra de 761 mulheres não grávidas, com idades entre 10 e 49 anos em todo o estado de Pernambuco, utilizando como indicador os níveis hematológicos de Hb, encontraram prevalência de anemia de 15,1% (IC_{95%}: 12,7-17,8), valor comparável ao encontrado na nossa casuística. Outro estudo desenvolvido por Cavalcanti et al. (2014), realizado no município de Gameleira, Zona da Mata Sul de Pernambuco, observaram que 38,8% (IC_{95%}: 33,2 -

44,4) das mulheres em idade fértil apresentaram anemia. Deve-se levar em consideração que essa região é uma das que apresentam maior fragilidade econômica do estado.

Habib et al. (2018), num estudo de base populacional conduzido no Paquistão, com 7.491 mulheres não grávidas, com idade entre 15-49 anos, encontraram uma prevalência de anemia de 18,1%, considerada também como leve e ligeiramente superior ao estimado como a prevalência global de anemia que situa-se em torno de 17% nessa população (WHO, 2014). Os autores também mostraram que a chance de anemia nas mulheres aumenta na ausência de suplementação de ácido fólico e de ferro durante a última gravidez, bem como nas mulheres com histórico de mais de quatro gestações, com curto intervalo de parto (inferior a 24 meses) e nas famílias que vivem em insegurança alimentar.

Em países em situação de extrema pobreza, como na Papua-Nova Guiné, entre mulheres não grávidas, não foi encontrado nenhum caso de obesidade, cerca de 22,8% estavam desnutridas e uma prevalência moderada de anemia, 35,4% das mulheres estavam anêmicas (GORIS, 2017).

O estado nutricional das mulheres no período perigestacional é importante para um desfecho favorável da gravidez (BLACK et al., 2013) e os riscos de ainda existir anemia durante a gestação são elevados. Uma revisão sistemática com metanálise (RAHMAN et al., 2016) apresentou riscos significativamente maiores de baixo peso ao nascer (RR: 1,31; IC_{95%}: 1,13 - 1,51), parto prematuro (RR: 1,63; IC_{95%}: 1,33 - 2,01), mortalidade perinatal (RR: 1,51; IC_{95%}: 1,30 - 1,76) e mortalidade neonatal (RR: 2,72; IC_{95%}: 1,19 - 6,25) em mulheres que apresentam anemia durante a gestação.

Nas mulheres avaliadas neste estudo as concentrações de Hb foram menores nas fumantes, quando comparadas com as não fumantes. O tabagismo materno durante a gravidez continua a representar um importante problema de saúde pública, pois nenhuma mulher deveria fumar durante a gestação. A nicotina é extremamente prejudicial para o desenvolvimento do feto. Além disso, crianças expostas à nicotina tendem a ter vários problemas de saúde ao longo de suas vidas, incluindo a função prejudicada dos sistemas endócrino, reprodutivo, respiratório, cardiovascular e neurológico (HOLBROOK, 2016).

A deficiência de vitamina B12 situou-se em segundo lugar no *ranking* das carências avaliadas (7,0%), um alerta para a população desse contexto ecológico, pois são poucos os estudos que abordam a carência de vitamina B12 em mulheres em idade fértil e os programas de suplementação alimentar não incluem esta vitamina. Outra limitação para explorar ainda mais os resultados dessa pesquisa foi a ausência de associação entre as concentrações séricas de vitamina B12 com os parâmetros sócio-econômicos, demográficos e antropométricos estudados.

Estudos brasileiros realizados em mulheres grávidas como o de Thame et al. (1998), que avaliaram gestantes da cidade de São Paulo, após a confirmação de DTN em seus fetos, encontraram 11,8% de deficiência de vitamina B12 e nenhum caso de deficiência de folato. Giugliani et al. (1984) diagnosticaram, em mulheres em trabalho de parto em Porto Alegre, 5,9% de deficiência de ácido fólico e 21,9% de deficiência de vitamina B12. Um estudo caso-controle, de base populacional, realizado no Canadá, apresentou uma chance quase três vezes maior para defeitos do tubo neural na presença de baixo nível de vitamina B12 materna (RAY et al., 2007).

A exemplo do que ocorreu em diversos países, como Reino Unido, Canadá, Chile, Costa Rica e Estados Unidos, o governo brasileiro estabeleceu a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico (ANVISA, 2002). Por sua vez, lançou o 'Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil', que dentre seus objetivos, visa alcançar até 2022 a redução na prevalência de obesidade em crianças, adolescentes e adultos e aumentar o consumo de frutas e legumes na população para reduzir as carências de micronutrientes (MALTA, 2013). Há ainda que considerar que a OMS (WHO, 2013) e o Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2012) recomendam a suplementação universal de ácido fólico para as mulheres em idade fértil que desejem engravidar e para todas as gestantes até o final da gravidez, fato que pode explicar a prevalência extremamente reduzida das concentrações de folato intra-eritrocitário abaixo dos valores de referência na amostra estudada.

Em tese, o consumo de alimentos fortificados pode contribuir para a manutenção de um estado nutricional adequado e prevenir contra a deficiência de micronutrientes essenciais ao organismo. Embora os resultados da fortificação alimentar sejam esperados em longo prazo, efeitos positivos podem ser observados mais rapidamente quanto maior for a necessidade fisiológica (WHO, 2001).

Embora acima do limite de corte recomendado, as adolescentes da amostra apresentaram concentrações de folato intra-eritrocitário inferiores as mulheres de maior faixa etária. Uma possível explicação para esse resultado seria devido aos adolescentes de uma maneira geral não apresentarem hábitos alimentares saudáveis (BARRETO NETO, 2015), conseqüentemente apresentam baixo consumo de folhas e vegetais de cor verde que são fontes de ácido fólico, além de terem menor conhecimento e/ou cuidados com a saúde. Do mesmo modo as mulheres

com os menores valores de renda familiar também podem ter limitações no conhecimento e/ou cuidados com a saúde, além de menor poder aquisitivo para compra de alimentos considerados saudáveis, fontes de minerais e de vitaminas como o ácido fólico e neste estudo apresentaram concentrações de folato intra-eritrocitário inferiores as mulheres de maior renda familiar.

Alsammani et al. (2017) avaliando o conhecimento e o uso de suplementos de ácido fólico em mulheres grávidas, com idade entre 18 e 45 anos do Sudão, mostraram que cerca de 80% das mulheres entrevistadas já tinham ouvido falar sobre o ácido fólico, mas apenas 8,9% sabiam que o ácido fólico reduz a ocorrência de defeitos congênitos e apenas 3,2% usaram o folato durante o período de pré-concepção, enquanto 55,2% tinham usado durante o primeiro trimestre de gestação. Escolaridade elevada, residir em área urbana e o maior número de consultas durante o período pré-natal foram significativamente associados ao maior conhecimento e uso de suplementação de ácido fólico.

Nauman et al. (2018), num estudo do tipo caso-controle, em mães paquistanesas, encontraram médias de concentrações de folato intra-eritrocitário significativamente maiores ($p < 0,0001$) nas mães do grupo controle ($337,2 \pm 18,42$ ng/mL), quando comparadas as mães consideradas como caso ($104,1 \pm 9,17$ ng/mL), definidas como mulheres com diagnóstico pré-natal de defeitos no tubo neural fetal, confirmado em ultra-sonografia durante o pré-natal e mães de recém-nascidos com malformações do tubo neural, que não tinham recebido o diagnóstico pré-natal de defeitos no tubo neural fetal.

A mediana do consumo calórico elevada parece ter contribuído para a alta prevalência de mulheres com excesso de peso. Quase metade da amostra apresentou excesso de peso (45,1%) e o consumo calórico total foi elevado mesmo

no extrato social de baixa renda familiar, o que possivelmente é um reflexo do consumo de alimentos ultraprocessados que apresentam elevada densidade calórica e baixo custo.

O consumo energético médio da população brasileira, segundo dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (IBGE, 2011) variou de 1490 kcal a 2289 kcal/dia, sendo de 1683 a 1866 Kcal/dia o consumo calórico das mulheres em idade fértil na região Nordeste, valores inferiores ao encontrado na nossa casuística. Embora os estudos tenham sido realizados em épocas similares, as mulheres da nossa casuística residiam exclusivamente em área urbana, que tendem a apresentar maior acesso e consumo de alimentos ultraprocessados quando comparadas as mulheres de regiões rurais das cidades do interior do Nordeste. São exemplos de alimentos ultraprocessados: biscoitos recheados, salgadinhos “de pacote”, refrigerantes, macarrão “instantâneo”, entre outros (MONTEIRO, 2018).

De acordo com o Guia alimentar para a população brasileira (BRASIL, 2014) a elevada quantidade de calorias por grama, comum à maioria dos alimentos ultraprocessados, é um dos principais mecanismos que desregulam o balanço energético e aumentam o risco de obesidade. A quantidade de calorias dos alimentos ultraprocessados varia de cerca de duas e meia calorias por grama (maioria dos produtos panificados) a cerca de quatro calorias por grama (barras de cereal), podendo chegar a cinco calorias por grama, no caso de biscoitos recheados e salgadinhos “de pacote”. Essa quantidade de calorias por grama é duas a cinco vezes maior que a da tradicional mistura de duas partes de arroz para uma de feijão (BRASIL, 2014).

Outros atributos comuns a muitos alimentos ultraprocessados podem comprometer os mecanismos que sinalizam a saciedade e controlam o apetite,

favorecendo, assim, o consumo involuntário de calorias e aumentando o risco de obesidade. Entre esses atributos estão o baixo custo dos seus ingredientes e as embalagens nas quais esses alimentos são comercializados. É comum que muitos alimentos ultraprocessados sejam vendidos em recipientes ou embalagens gigantes e a preço apenas ligeiramente superior ao de produtos em tamanho regular. Diante da exposição a recipientes ou embalagens gigantes, é maior o risco do consumo involuntário de calorias e maior, portanto, o risco de obesidade. Além disso, a maioria dos alimentos ultraprocessados é formulada para ser consumida em qualquer lugar e sem a necessidade de pratos, talheres e mesa (BRASIL, 2014).

As mulheres com sobrepeso e obesidade não apresentaram diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas de vitamina B12, de folato intra-eritrocitário e de Hb quando comparadas com as mulheres com baixo peso e as eutróficas. A mediana de ingestão de ferro e de ácido fólico, 18,7 mg/dia e 553,7 µg/dia, respectivamente, foi superior ao recomendado como meta de ingestão diária (IOM, 2000) que, para mulheres em idade fértil, é 15 a 18 mg de ferro por dia e 400 µg de ácido fólico por dia. Não foi possível quantificar o consumo alimentar de vitamina B12 no DietSys software, sendo a recomendação de ingestão diária 2,4 µg/dia (IOM, 2000). Pesquisa realizada em um contexto ecológico semelhante ao deste estudo verificou que todas as gestantes avaliadas, incluindo as anêmicas, estavam com consumo alimentar de ferro inadequado (OLIVEIRA, 2015), pois durante a gestação a recomendação de ingestão diária de ferro aumenta para 27 mg/dia (IOM, 2000).

Embora o padrão de consumo alimentar não tenha apresentado diferença significativa entre as mulheres, no que diz respeito ao estado nutricional e ao número de pessoas no domicílio, esse padrão variou em função da idade, da renda e da

escolaridade. Entre as adolescentes, o consumo de ferro foi significativamente maior que nas demais faixas etárias, fato que poderia ser atribuído ao elevado consumo de alimentos ultraprocessados, que possuem baixo custo. Deve-se salientar que grande parte destes alimentos são enriquecidos com ferro, como produtos de panificação ou alimentos de origem animal, tais como hambúrgueres, salsichas e carnes processadas que apresentam elevada quantidade de ferro e alta densidade calórica. Deve-se ressaltar também que, esse grupo etário também apresentou maior consumo calórico que as demais faixas etárias, no entanto sem diferença estatisticamente significativa.

O consumo de alimentos ultraprocessados tem aumentado na população brasileira (MARTINS, 2013) e segundo dados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE) a prevalência de consumo desses alimentos entre adolescentes mostrou-se elevada, além disso, também foi evidenciado que quanto maior o tempo de comportamento sedentário, maior a prevalência de consumo de alimentos ultraprocessados (COSTA, 2018).

Estudo conduzido por Barreto Neto et al. (2015), realizado com adolescentes do mesmo contexto ecológico da nossa casuística, encontrou resultados similares, onde foi observada uma elevada prevalência de excesso de peso e alto consumo de alimentos processados e ultra-processados, que são considerados fatores de risco para desenvolvimento de excesso de peso. Por sua vez, Silva & Silva (2015) em outra pesquisa, também realizada no Nordeste do Brasil, verificaram baixo consumo de frutas, verduras e legumes em adolescentes. O consumo inadequado de frutas foi da ordem de 79,1% e o de verduras e legumes de 90,6%, o que pode ter contribuído para o crescente aumento nas prevalências de excesso de peso e carência de micronutrientes.

O consumo de fibras mais elevado nas mulheres de maior faixa etária poderia ser atribuído à maior preocupação dessas mulheres com a qualidade da alimentação, em virtude de alterações na composição corporal e no balanço energético, que ocorrem com o envelhecimento e favorecem o ganho de peso (MICHALAKIS, 2013). Logo, seria plausível supor que essas mulheres iniciaram modificações na alimentação, com dieta para perda ponderal e, destarte, apresentaram um padrão alimentar mais saudável, com dieta rica em fibras.

Azevedo et al. (2014) constataram que indivíduos adultos obesos tinham maior consumo de alimentos fonte de fibras, a exemplo de frutas, legumes e verduras, pois seriam indivíduos que já estariam em esquema terapêutico, com dieta para perda ponderal e, portanto, apresentando um padrão alimentar saudável. Esse fenômeno da causalidade reversa também pode ter sido observado no nosso estudo, pois não houve diferença estatisticamente significativa entre a ingestão calórica das mulheres de renda mais elevada com aquelas de renda intermediária. Embora a renda pudesse ser até 10 vezes maior, a quantidade de calorias ingeridas não variou em função dessa renda mais elevada, considerando que, possivelmente, essas mulheres apresentam maior preocupação com a saúde e a estética e, conseqüentemente, tendem a apresentar uma maior regulação e controle da ingestão calórica.

O fato de o menor consumo calórico ocorrer nas mulheres com menor renda poderia ser explicado pela menor acessibilidade financeira para compra de gêneros alimentícios. No entanto, sabe-se que a quantidade de calorias não determina a qualidade da alimentação. Estudo realizado na Espanha (SCHRÖDER, 2016) mostrou que o custo diário mais elevado da alimentação estaria associado à ingestão alimentar mais saudável. Logo, o maior nível socioeconômico é um

determinante para o maior poder de compra de alimentos e maior qualidade da dieta. No nosso estudo, o cálcio, nutriente presente em grande quantidade em produtos lácteos, que são alimentos de custo elevado, apresentou maior consumo nas mulheres de renda mais elevada. Contudo, o fato de o consumo de vitamina C ter sido mais elevado nas mulheres com menor renda, pode ser atribuído a um erro de caráter simplesmente aleatório, considerando que o consumo de vitaminas e/ou minerais é mais elevado em dietas saudáveis, que por sua vez têm custo mais elevado.

Em relação às quantidades ingeridas numa refeição ou dieta, admite-se que o organismo normal tenta manter sua homeostase e, geralmente, absorve mais quando suas reservas estão diminuídas e menos quando estão em condições adequadas ou de excesso. Por sua vez, deve-se enfatizar que o excesso de um nutriente pode interferir no aproveitamento biológico de outro (COZZOLINO, 1997). A ausência de correlação positiva entre o consumo de vitamina C e o consumo de ferro é um fato preocupante, considerando-se que mulheres em idade fértil apresentam perdas sanguíneas mensais e assim se tornam mais susceptíveis à ocorrência de anemia. Além disso, é bastante conhecida a interação da vitamina C com o ferro, facilitando a absorção do ferro não heme na alimentação (COZZOLINO, 1997), e também que a vitamina C pode influenciar o transporte e armazenamento do ferro no organismo, por ser importante na modulação da síntese de ferritina e, portanto, no armazenamento de ferro (TOTH, 1995).

Uma explicação plausível para a fraca associação entre o consumo alimentar com as concentrações bioquímicas avaliadas sugere que existe um controle homeostático e, embora possa existir o aumento no consumo alimentar dos

nutrientes, as concentrações bioquímicas parecem se manter estáveis próximo ao limite de corte recomendado.

Dentre as limitações do estudo deve-se pontuar uma de caráter metodológico, considerando que o QFA depende da memória do entrevistado e, além do que, informações sobre o consumo de alguns alimentos podem ser perdidas, pois, geralmente, nesse instrumento não é possível incluir todos os itens alimentares consumido por uma população. Para minimizar esse viés, adotamos um questionário validado numa população semelhante a desse estudo, que contém uma lista para investigação do consumo dos mesmos nutrientes. Outra limitação deste estudo seria o fato de o diagnóstico de anemia ter sido baseado nos níveis sanguíneos de Hb. A adoção de outros indicadores, a exemplo da ferritina, ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, protoporfirina eritrocitária livre, percentual de saturação da transferrina e, sobretudo, receptores da transferrina contribuiriam para uma melhor caracterização, tanto da deficiência de ferro, quanto da anemia ferropriva. Todavia, o baixo custo e a relativa facilidade de determinação dos parâmetros hematimétricos, somado ao fato de que a OMS recomenda o uso desses indicadores para estudos epidemiológicos, justificam o seu uso.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O impacto da anemia e de carências nutricionais em mulheres em idade fértil e suas repercussões durante a gestação devem ser apreciados não somente pela magnitude numérica em termos epidemiológicos, mas também por suas consequências clínicas na saúde dos indivíduos afetados, que gera um impedimento ao desenvolvimento das nações com esse tipo de problema.

Apesar da crescente prevalência de obesidade e doenças relacionadas aos excessos alimentares a anemia ainda constitui um dos desafios da saúde pública. Apesar das estratégias para erradicar a anemia essa carência nutricional foi dominante e a deficiência de vitamina B12 sérica superando a de folato intra-eritrocitário é preocupante, em virtude do aumento no risco de defeitos no tubo neural e a ausência de programas de combate à insuficiência de vitamina B12, como a fortificação de alimentos.

Espera-se com este estudo fornecer dados importantes para o Estado de Pernambuco e para a região Nordeste do Brasil, contribuindo para o planejamento de estratégias efetivas e ações direcionadas à prevenção e ao manejo da anemia e da deficiência vitamina B12 e ácido fólico.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Regulamento técnico para a fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e fólico. Diário Oficial da União 2002; 18 dez.

Alsammani MA, Kunna A, Adam EM. Factors associated with folic acid knowledge and intake among pregnant women in Sudan. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2017; 14;23(10):662-669. doi: 10.26719/2017.23.10.662.

Araujo CRMA, Uchimura TT, Fujimori E, Nishida FS, Veloso GBL, Szarfarc SC. Níveis de Hb e prevalência de anemia em gestantes atendidas em unidades básicas de saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2013; 16(2):535-45.

Argüello MPB, Solís LM. U. Impacto de la fortificación de alimentos con ácido fólico en los defectos del tubo neural en Costa Rica. *Rev Panam Salud Publica*. 2011; 30(1):1-6.

Azevedo ECC, Dias FMR, Diniz AS, Cabral PC. Consumo alimentar de risco e proteção para as doenças crônicas não transmissíveis e sua associação com a gordura corporal: um estudo com funcionários da área de saúde de uma universidade pública de Recife (PE), Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2014;19(5):1613-1622. doi: 10.1590/1413-81232014195.06562013

Barreto Neto, Andrade MIS, Lima VLM, Diniz AS. Body weight and food consumption scores in adolescents from Northeast Brazil. *Revista Paulista de Pediatria*. 2015; 33(3):318-25. doi: 10.1016/j.rpped.2015.01.002.

Barros Filho AA, Assumpção D. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Secretaria de Programas Especiais. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos - utensílios e porções. Goiânia: 1996. 71 p

Batista Filho M, Souza AI, Bressani CC. Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2008; 13(6):1917-22.

Batista Filho M, Souza AI, Miglioli TC, Santos MC. Anemia e obesidade: um paradoxo da transição nutricional brasileira. *Cadernos de Saúde Pública*. 2008; 24(2):247-57.

Black RE, Alderman H, Bhutta ZA, Gillespie S, Haddad L, Horton S, et al. Maternal and Child Nutrition Executive Summary of the Lancet Maternal and Child Nutrition Series. *Lancet Series*. 2013;382:1-12. doi: 10.1016/S0140-6736(13) 60988-5.

Blencowe H, Cousens S, Modell B, Lawn J. Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *International Journal of Epidemiology*. 2010; 39(Supl. 1):i110-i21.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. *Diário Oficial da União*. 13 de dezembro de 2002.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). Pesquisa nacional de demografia e saúde da criança e da mulher PNDS 2006: Dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília (DF); 2009.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília: MS; 2012. *Cadernos de Atenção Básica*, nº 32. Série A. Normas e Manuais Técnicos.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais. Brasília: MS; 2013.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - 2. ed., 1. reimpr. - Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156 p.

Calvo EB, Biglieri AL. Impacto de la fortificación con ácido fólico sobre el estado nutricional en mujeres y la prevalencia de defectos del tubo neural. *Archivos Argentinos De Pediatría*. 2008; 106(1):492-8.

Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *The New England Journal of Medicine*. 2015; 7;372(19):1832-43. doi: 10.1056/NEJMra1401038.

Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology*. American Society of Hematology. Education Program. 2003; 23(1):62-81.

Carmel R. Measuring and interpreting holo-transcobalamin (holo-transcobalamin II). *Clinical Chemistry*. 2002; 48(3):407-9.

Cavalcanti DS, Vasconcelos PN, Muniz VM, Santos NF, Osório MM. Iron intake and its association with iron-deficiency anemia in agricultural workers' families from the Zona da Mata of Pernambuco, Brazil. *Revista de Nutrição*. 2014; 27(2):217-227.

Cepeda-Lopes AC, Melse-Boonstra A, Zimmermann MB, Herter-Aeberli I. In overweight and obese women, dietary iron absorption is reduced and the enhancement of iron absorption by ascorbic acid is one-half that in normal-weight women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015; 102(6):1389-97.

Costa CS, Flores TR, Wendt A, Neves RG, Assunção MCF, Santos IS. Comportamento sedentário e consumo de alimentos ultraprocessados entre adolescentes brasileiros: Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE), 2015. *Cadernos de Saúde Pública*. 2018; 34(3). doi:10.1590/0102-311x00021017

Costa MH, Souza AI, Braga MC, Batista Filho M. Coexistence of anemia and vitamin A deficiency in women of childbearing age in the Northeast region of Brazil. *Revista de Nutrição*. 2013; 26(5), 509-16. doi: 10.1590/S1415-52732013000500002.

Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*. 1997;10(2):87-98. doi 10.1590/S1415-52731997000200001. Crider KS, Bailey LB, Berry RJ. Folic acid food fortification – its history, effect, concerns, and future directions. *Nutrients*. 2011; 3:370-84.

Crivellenti LC, Barbieri P, Sartorelli DS. Folate inadequacy in the diet of pregnant women. *Revista de Nutrição*. 2014; 27(3): 321-27.

Darnton-Hill I, Mkpuru UC. Micronutrients in pregnancy in low- and middle-income countries. *Nutrients*. 2015; 10;7(3):1744-68.

Demétrio F. Teles-Santos CAS, Santos DB. Food Insecurity, Prenatal Care and Other Anemia Determinants in Pregnant Women from the NISAMI Cohort, Brazil: Hierarchical Model Concept. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2017. doi: 10.1055/s-0037-1604093.

Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares. 1. ed. São Paulo, SP: Signus, 2002. 71p.

Food and Drug Administration (FDA). Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Federation Register*. 1996; 61:8781-97.

Fujimori E, Baldino CF, Sato APS, Borges ALV, Gomes MN. Prevalence and spatial distribution of neural tube defects in São Paulo State, Brazil, before and after folic acid flour fortification. *Cadernos de Saúde Pública*. 2013; 29(1):145-54.

Giugliani ER, Jorge SM, Gonçalves AI. Folate and vitamin B12 deficiency among parturients from Porto Alegre, Brazil. *Revista de Investigación Clínica*. 1984; 36(2):133-6.

Goris JM, Zomerdijk N, Temple VJ. Nutritional status and dietary diversity of Kamea in Gulf Province, Papua New Guinea. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2017;26(4):665-670. doi: 10.6133/apjcn.052016.09.

Guéant-Rodriguez RM, Rendeli C, Namour B, Venuti L, Romano A, Anello G, et al. Transcobalamin and methionine synthase reductase mutated polymorphisms aggravate the risk of neural tube defects in humans. *Neuroscience Letters*. 2003; 344:189-92.

Guilbert JJ. The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Education for Health*. 2003; 16(2):230.

Habib MA, Raynes-Greenow C, Soofi SB, Ali N, Nausheen S, Ahmed I, et al. Prevalence and determinants of iron deficiency anemia among non-pregnant women of reproductive age in Pakistan. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2018; 27(1):195-203. doi: 10.6133/apjcn.042017.14.

Haider BA, Olofin I, Wang M, Spiegelman D, Ezzati M, Fawzi WW. Anaemia, prenatal iron use, and risk of adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *The BMJ*. 2013; 346:f3443.

Harding KL, Aguayo VM, Webb P. Hidden hunger in South Asia: a review of recent trends and persistent challenges. *Public Health Nutrition*. 2017; 19:1-11. doi: 10.1017/S1368980017003202.

Henderson RH, Sundaresan T. Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bulletin World Health Organization*. 1982; 60:253-60.

Hertrampf E, Cortés F. Folic acid fortification of wheat flour: Chile. *Nutr Rev*. 2004; 62(6 Pt 2):S44-8.29.

Hodgetts VA, Morris RK, Francis A, Gardosi J, Ismail KM. Effectiveness of folic acid supplementation in pregnancy on reducing the risk of small-for-gestational age neonates: a population study, systematic review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2014; 121(12):1453-66.

Holbrook BD. The effects of nicotine on human fetal development. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today*. 2016; 108(2):181-92. doi: 10.1002/bdrc.21128

Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong LY. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA*. 2001; 285(23):2981-6.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

III Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: Saúde, Nutrição, Alimentação, Condições Socioeconômicas e Atenção à Saúde no Estado de Pernambuco. SES-PE (Secretaria Estadual de Saúde do Estado de Pernambuco). UFPE (Universidade Federal de Pernambuco). Recife; 2006.

Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. Washington (DC): National Academy Press; 2000.

Iqbal S, Ekmekcioglu C. Maternal and neonatal outcomes related to iron supplementation or iron status: a summary of meta-analyses. *The Journal of Maternal Fetal & Neonatal Medicine*. 2017; 5:1-13. doi: 10.1080/14767058.2017.1406915.

Machado KMM, Ferreira LOC, Souza AI, Diniz AS. Efeitos colaterais do sulfato ferroso administrado em diferentes posologias em mulheres em idade reprodutiva: estudo randomizado, duplo cego e controlado por placebo. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*. 2011; 11(3):275-81.

Mafrá D & Cozzolino SMF. Ácido fólico. Vitamina B12. In: COZZOLINO, S. M. F.. Biodisponibilidade de Nutrientes, 5. ed. Barueri, SP: Manole, 2016. cap 19,20 p. 511-541.

Malta DC, SILVA JR JB. Brazilian strategic action plan to combat chronic non-communicable diseases and the global targets set to confront these diseases by 2025: a review. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2013;22(1):151-64. doi: 10.5123/S1679-49742014000300002.

Martins APB, Levy RB, Claro RM, Moubarac JC, Monteiro CA. Participação crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009). *Rev Saúde Pública* 2013; 47:656-65.

Michalakis K, Goulis DG, Vazaiou A, Mintziori G, Polymeris A, Abrahamian-Michalakis A. Obesity in the ageing man. *Metabolism*. 2013;62(10):1341-9. doi: 10.1016/j.metabol.2013.05.019.

Miglioli TC, Fonseca VM, Gomes-Júnior SC, Lira PIC, Batista Filho M. Deficiência de Vitamina A em mães e filhos no Estado de Pernambuco. *Ciência & saúde coletiva*. 2013; 18(5):1427-1440.

Miller R, Spiro A, Stanner S. Micronutrient status and intake in the UK - wheremight web e in 10years'time? *Nutrition Bulletin*. 2016; 41(1):14-41.

Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr* 2018; 21:5-17.

Monteiro JP, Pfrimer K, Tremeschin MH, Molina MC, Chiarello P. *Nutrição e Metabolismo – Consumo alimentar: Visualizando porções*. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2007. 92 p.

Nauman N, Jalali S, Shami S, Rafiq S, Grobe G, Hilger AC, et al. Low maternal folate concentrations and maternal MTHFR C677T polymorphism are associated with an increased risk for neural tube defects in offspring: a case-control study among Pakistani case and control mothers. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2018; 27(1):253-260. doi: 10.6133/apjcn.032017.10.

Niquini RP, Bittencourt SDA, Lacerda EMA, Saunders C, Leal MC. Fatores associados a não adesão à prescrição de uso de suplemento de ferro: estudo com gestantes do município do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*. 2016; 1(2):189-199. <https://dx.doi.org/10.1590/1806-93042016000200007>.

Obeid R, Murphy M, Solé-Navais P, Yajnik C. Cobalamin Status from Pregnancy to Early Childhood: Lessons from Global Experience. *Advances in Nutrition*. 2017; 15;8(6):971-979. doi: 10.3945/an.117.015628.

Olmedo-Requena R, Gómez-Fernández J, Mozas-Moreno J, Lewis-Mikhael AM, Bueno-Cavanillas A, Jiménez-Moleón JJ. Factors associated with adherence to nutritional recommendations before and during pregnancy. *Women Health*. 2017; 9:1-18. doi: 10.1080/03630242.2017.1388332.

Oliveira ACM, Barros AMR, Ferreira RC. Fatores de associados à anemia em gestantes da rede pública de saúde de uma capital do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2015; 37(11):505-511. doi.org/10.1590/SO100-720320150005400.

Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin World Health Organization*. 2007;85:660-7.

Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. *Tabela para avaliação de consume alimentar e medidas caseiras*. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Atheneu, 2004. 152 p.

Rahman MM, Abe SK, Rahman MS, Kanda M, Narita S, Bilano V, et al. Maternal anemia and risk of adverse birth and health outcomes in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2016 ;103(2):495-504. doi: 10.3945/ajcn.115.107896.

Ray JG, Meier C, Vermeulen MJ, Boss S, Wyatt PR, Cole DE.. Association of neural tube defects and folic acid food fortification in Canada. *Lancet*. 2002; 360:2047-8.

Ray JG, Wyatt PR, Thompson MD, Vermeulen MJ, Meier C, Wong PY, et al. Vitamin B12 and the Risk of Neural Tube Defects in a Folic-Acid-Fortified Population. *Epidemiology*. 2007; 18(3):362-66.

Refsum H, Yajnik CS, Gadkari M, Schneede J, Vollset SE, Orning L, et al. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74(2):233-41.

Salas ZJ, Faz-Cepeda F, Castañón LNB, Martínez PCC, Obregón MCM, Torres MSC et al.. Consumo de folatos de mujeres en edad fértil de Apocada, N.L. México. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2003; 4(4):1-7.

Santos LMP. (organizador). *Bibliografia sobre deficiência de micronutrientes no Brasil: 1990-2000*. Vol. 2. Brasília: OPAS; 2002.

Silva DAS, Silva RJS. Association between physical activity level and consumption of fruit and vegetables among adolescents in Northeast Brazil. *Revista Paulista de Pediatria*. 2015;33(2):167-73. doi: 10.1016/j.rpped.2014.09.003.

Thame G, Shinohara EMG, Santos HG, Moron AF. Folato, Vitamina B12 e Ferritina Sérica e Defeitos do Tubo Neural. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 1998; 20(8):449-53.

Thompson B. & Amoroso L. (editors). *Improving Diets and Nutrition: Food-Based Approaches*. 2014. Rome and Wallingford: FAO and CAB International.

Toth I, Bridges KR. Ascorbic acid modulates ferritin translation by an aconitase/IRP switch. *Blood*. 1995;86(1):127. Supplement 1.

United States of America (U.S.A.). Centers for Disease Control and Prevention. *Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population 2012*. Atlanta (GA): National Center for Environmental Health; April 2012.

World Health Organization (WHO). *Obesity: Preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva; 1998.

World Health Organization (WHO). *Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control – a guide for programme managers*. Geneve, Switzerland: WHO, 2001.

World Health Organization (WHO). *Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005*. WHO Global Database on Anaemia. Geneve: WHO; 2008.

World Health Organization (WHO). Guideline: daily supplementation of iron and folic acid in pregnant women. Geneva: WHO; 2013.

World Health Organization. "Anemia policy brief". 2014. Available from: http://www.who.int/nutrition/topics/globaltargets_anaemia_policybrief.pdf.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG nº _____, declaro que recebi os devidos esclarecimentos por parte da equipe de pesquisa do médico Túlio Bráulio Cantalice de Paula (CRM 12.159) em relação ao estudo sobre **“Impacto do Consumo de Farinhas de Trigo e Milho Fortificadas com Ácido Fólico sobre as Concentrações de Folato Intra-eritrocitário de Mulheres em Idade Reprodutiva na Região Metropolitana do Recife”** e estou perfeitamente consciente que:

- 1- O estudo tem como objetivo avaliar o impacto das farinhas de trigo e milho fortificadas com ácido fólico sobre as concentrações sanguíneas de folato de mulheres em idade reprodutiva após a implantação do programa nacional de fortificação, segundo a RDC 344/2002 da ANVISA;
- 2- O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira (fone: 2122-4100/2122-4702) sob o nº 719, em 05 de janeiro de 2006, de acordo com as normas contidas na Resolução 169/96 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil/MS, 1996) e registro no Conselho Nacional de Ética e Pesquisa – CONEP;
- 3- Não existem risco à saúde dos examinados. Caso ocorra algum dano decorrente do procedimento de coleta de sangue, a equipe se responsabiliza pela assistência adequada;
- 4- Receberei respostas a perguntas ou esclarecimentos a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa; para isso, poderei me comunicar a qualquer momento com o médico e pesquisador Túlio Cantalice de Paula (CRM 12.159) através do fone 9972-3331 ou com o Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira (2122-4100/2122-4702);
- 5- Será aplicado um questionário para se conhecer os alimentos consumidos pelas participantes da pesquisa, o chamado Questionário de Frequência Alimentar, para verificação da presença dos alimentos-fontes de folato e farinhas fortificadas com ácido fólico no cardápio, avaliando a frequência de consumo de cada alimento;
- 6- Estou concordando livremente em participar desta pesquisa, sem receber qualquer tipo de pressão da equipe de pesquisadores;
- 7- Continuarei a ser atendida nessa Unidade de Saúde, dispondo de toda a atenção, independentemente da minha participação na pesquisa;
- 8- Não serei identificada e será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à minha privacidade;
- 9- Tenho o direito de saber o resultado da pesquisa, se assim o desejar;
- 10- Poderei abandonar, a qualquer momento, a pesquisa caso não me sinta satisfeita, sem que isso venha prejudicar o meu atendimento nessa unidade de Saúde.

Assinatura: _____ / / _____.

Pesquisador (a): _____

Testemunha 1: _____ Testemunha 2: _____

**APÊNDICE D: ARTIGO ENVIADO PARA A REVISTA EUROPEAN JOURNAL OF
CLINICAL NUTRITION**

**Concentrations of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin in
women of childbearing age and associated factors**

Running title: **Folate, vitamin B12 and hemoglobin in women of childbearing age**

Authors: **Rafaella de Andrade Silva Cavalcanti, Alcides da Silva Diniz, Ilma Kruze**

Grande de Arruda

ABSTRACT

Background: Women of childbearing age represent a group of high vulnerability to the development of nutritional deficiencies, especially iron deficiency and nutrients related to an adequate gestation, such as folic acid and vitamin B12. **Objective:** Verify the relations between intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin concentrations in women of childbearing age, and their association with several socio-economic and demographic variables, nutritional status and food consumption in the city of Recife, Northeastern Brazil. **Methods:** Cross-sectional study with a random sample of 1,210 women of childbearing age from the city of Recife. **Results:** Reductions in hemoglobin concentrations were found in 141 women (12.0%, CI_{95%}: 10.3 - 13.9), serum vitamin B12 in 81 women (7.0%; CI_{95%}: 5.7-8.6), and only 1 woman had a reduction in intra-erythrocyte folate concentrations. No women had a concomitant reduction of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin concentrations. However, 13 women (1.1%, CI_{95%}: 0.6 - 1.9) had a concomitant deficiency of hemoglobin and vitamin B12. Intra-erythrocyte folate concentrations were higher in women of a higher age and income. Hemoglobin concentrations were lower in smokers and serum vitamin B12 concentrations did not show a significant variation in relation to socioeconomic, demographic and anthropometric parameters. There was no strong correlation between food consumption and biochemical concentrations evaluated. **Conclusion:** Despite the strategies to eradicate anemia, this nutritional deficiency was dominant. Serum vitamin B12 deficiency outpacing intra-erythrocyte folate is worrying due to the lack of programs to fight against vitamin B12 insufficiency. Age and income were directly related to intra-erythrocyte folate concentrations. Food consumption suggests that there is a homeostatic control to maintain equilibrium at biochemical concentrations.

Key words: folic acid, vitamin B12, anemia, iron, food consumption, women.

INTRODUCTION

"Hidden hunger" is a term used to describe the deficiency of vitamins and minerals¹. Micronutrient deficiencies are estimated to affect about two billion people, or nearly a third of the world's population¹. Despite the worldwide increase in the occurrence of overweight and obesity, the true extent of micronutrient deficiencies remains poorly documented, and "hidden hunger" continues to be a global challenge².

Women of childbearing age represent a highly vulnerable group to the development of nutritional deficiencies, especially deficiency of iron and nutrients related to a suitable gestation, such as folic acid and vitamin B12, as a consequence of the high demand of nutrients to supply both the needs of the mother and of the fetus³⁻¹¹.

Many studies show associations between neural tube defects and inadequate maternal intake of folic acid before or during pregnancy, a period where folic acid supplementation may reduce neural tube malformations⁶⁻¹⁰. It has been reported that more than 300,000 cases of neural tube defects occur globally each year, most of them in low-income countries⁹.

Vitamin B12 deficiency during pregnancy is associated with adverse maternal health outcomes. In addition, such mothers generate infants with vitamin B12 deficiency with symptoms of this deficiency during the first weeks or months after delivery, as well as developmental delay¹¹.

It has been recorded for a long time that the populations most affected by anemia are women of childbearing age, pregnant women and children⁴. Anemia in pregnant women, defined on an epidemiological scale by low hemoglobin (Hb) levels, has been associated with adverse neonatal outcomes³. Iron supplementation in pregnant women reduces the risk of iron deficiency and anemia in mothers and their children, and reduces the occurrence of preterm birth and infants with a low weight³.

In spite of the scientific evidence^{3,5,6,11} on complications due to folic acid, vitamin B12 and iron deficiency in women of childbearing age, there are still no studies available in Brazil

determining consistently the extent of the deficiencies of these micronutrients, especially in women of childbearing age in the Brazilian Northeast. In this context, our study verifies the relations between intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and Hb concentrations in women of childbearing age, as well as their association with several socio-economic and demographic variables, nutritional status and food consumption in the city of Recife, Northeastern Brazil.

METHODS

This study represents a part of the research "Impact of the consumption of iron and fortified wheat meal and corn meal on the intra-erythrocyte folate concentrations of women of childbearing age and incidence of neural tube defects in newborns in the city of Recife", carried out in from October 2007 to July 2008.

This was a cross-sectional study with a random sample of women between 15 and 45 years of age attended at the gynecological clinics of the municipal network of the Unified Health System (SUS) in the city of Recife/PE. The sample size was calculated by the formula¹²: $n = \{[z^2 \times p \times (100-p) \times c] / d^2\}$ based on the assumptions of a prevalence (p) of megaloblastic anemia of 8.0%, and on data from the pilot study [n = 30], with a variability (d) of 2.4% and a reliability of 95% (z). Since the selection of the sample was not simply random, but a conglomerate, a design effect correction (c) of 2.1 was used. Thus, the minimum sample size was 1,031 women. In order to correct any losses, there was an increase of 17% [100/100-17)], totaling a final sample of 1,210 women.

The following exclusion criteria were adopted: menstrual changes of the type hypermenorrhagia (> 80 mL of menstrual losses per cycle) or hypermenorrhea (> 8 days of menstrual losses per cycle); women with hematologic pathologies (falciform anemia), endocrine pathologies (diabetes *mellitus*, dysthyroidism or growth hormone disorders) or autoimmune diseases (lupus and other diseases requiring a special diet and/or the use of drugs to control the disease); users of drugs that interfere with folate metabolism:

aminopterin, methotrexate, trimethoprim, pyrimethamine, sulfasalazine and others (in the last 12 months); pregnant or lactating women or patients who have had the last childbirth or abortion in the last 12 months; users of vitamin supplements containing iron, folic acid or vitamin B in the 12 months prior to the survey.

The women were clarified about the research objectives and signed an informed consent. We applied a pre-coded questionnaire that addressed socio-economic and demographic variables, and performed weight and height evaluation. The concentrations of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and Hb were then determined.

In a subsample, a semi-quantitative food intake frequency questionnaire (FIQ) previously validated by Salas *et al.*¹³ (2003) was applied. The calculation of the sample size to apply the FIQ was based on the assumptions of a prevalence of inadequacy of folate consumption at 20% (data from the pilot study), with a margin of error of 4% and a reliability of 95%, with a minimum sample of 385 women; the following formula was used¹²: $n = \{[Z_{\alpha/2}^2 \times p \times (100 - p)] / d^2\}$. In order to correct any losses, an increase of 10% [100/(100/10)] was made, resulting in 424 women evaluated. The energy value of the diet and the consumption of proteins and micronutrients were analyzed by the DietSys software, version 4.0.

Concentrations of intra-erythrocyte folate and serum vitamin B12 were analyzed by electrochemiluminescence immunoassay using an Elecsys[®] automated equipment (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) using Folate II and Vitamin B12 test kits (Elecsys and cobas analyzers, Roche Diagnostics). Hb concentrations were measured by automated determination using the Sysmex XT-1800i hematology analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Serum vitamin B12 concentrations < 200 pg/mL¹⁴, intra-erythrocyte folate < 140 ng/mL¹⁴ and Hb < 12 g/dL¹⁵ were considered inadequate.

Weight was obtained using a digital scale (Model MEA-03200/Plenna), with capacity of 150 kg and scale of 100 grams, with the person barefoot and minimal clothing. The height was determined with a portable stadiometer (Alturaexata, Ltda) in millimeters, with an accuracy of up to (1 mm) throughout its length. The women were placed upright, barefoot, minimal clothing, upper limbs hanging over the body, heels, back and head touching the

wooden pillar. Weight and height readings were reviewed by an interviewer, aloud, and recorded on a specific form by another interviewer, who repeated the values, aloud, before recording them, to avoid possible errors in information transmission. To ensure the accuracy of measurements, two measures of weight and height were made. When the difference between the evaluations exceeded 0.5 cm for height and 100 g for weight, the measurement was repeated and the two measurements were recorded with the closest values using their average for recording purposes.

For the classification of the nutritional status of women, the Body Mass Index (BMI), determined by the weight (Kg)/height ratio² (meters) was used. In adolescents, the BMI curve for this age recommended by the World Health Organization (WHO)¹⁶ was used in women aged 19 years and older. The cut limits recommended by the WHO were used¹⁷: low weight: BMI < 18.5 kg/m²; eutrophy: BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m²; overweight: BMI ≥ 25.0 kg/m² and ≤ 29.9 kg/m² and obesity: ≥ 30.0 kg/m².

The database was compiled by the software Epi Info version 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, USA), with double entry and use of the module "validate" to identify and correct any inconsistencies in the typing process. For the statistical analysis, the statistical package SPSS version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used. Initially, continuous variables were tested for distribution normality using the Kolmogorov-Smirnov test. Only intrerythrocyte folate concentrations presented a Gaussian distribution. The concentrations of Hb and vitamin B12 underwent logarithmic transformations (ln) and were retested; however, only vitamin B12 concentrations showed normality in their distribution curve, being described by the geometric mean and confidence interval. The caloric value of the diet, the dietary intake of proteins, iron and folic acid did not present a Gaussian distribution and, even after the logarithmic transformation, only the dietary intake of proteins presented a normal distribution. The Hb concentrations of the 424 women who answered the FIQ showed a Gaussian distribution.

When the criteria of normality and homoscedasticity were met, the means were compared by Student *t* test for unpaired data (2 means) and ANOVA *one-way* (> 2 means),

using as a test *a posteriori* the Bonferroni multiple comparison test; when these criteria were not met, Mann Whitney's "U" tests (2 medians) and Kruskal Wallis (> 2 medians) were used, with Mann Whitney's "U" test performed *a posteriori*. The distribution of intra-erythrocyte folate and vitamin B12 concentrations (after log transformation), despite meeting the normality criterion, did not show homogeneity of variance when evaluating intra-erythrocyte folate concentrations, according to age and the BMI of women and vitamin B12 concentrations and according to the number of persons per household. Thus, they were described by the median and respective 25th and 75th percentiles.

The interrelationship between dietary intake of folic acid, iron and protein with concentrations of intra-erythrocyte folate, Hb and vitamin B12 was assessed by Pearson's correlation test, considering that at least one of the variables had a normal distribution. The proportions were described by performing a binomial distribution approximated to the normal distribution by a 95% confidence interval. A 5% significance level was used to reject the null hypothesis.

The research protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) and recorded at the National Council for Research Ethics (CONEP) under no. 907 on December 15, 2006. The researchers gave periodic lectures to the women interviewed presenting guidelines on healthy eating habits and, for those who presented an inadequate consumption of some nutrients, the referral was made for consultation with individualized care by a nutritionist in the SUS municipal network of Recife/Pernambuco, Northeast of Brazil.

RESULTS

Among the 1210 women who met the inclusion criteria, there were 34 impossibilities for the determination of Hb, 39 for intra-erythrocyte folate and 54 for vitamin B12. These impossibilities were mainly caused by denial of venipuncture, insufficient blood volume for biochemical analyses, as well as those inherent to the laboratory analysis process itself. The

sample had a median age of 30 years ($P_{25-75} = 24-38$), 2 pregnancies ($P_{25-75} = 1-3$), 4 persons residing per household ($P_{25-75} = 3 - 5$), family income of R\$ 510.00 ($P_{25-75} = R\$ 380.00 - 830.00$) and the majority (53.9%) did not work outside home.

Reductions in Hb concentrations were found in 141 women (12.0%, $CI_{95\%}$: 10.3 - 13.9), serum vitamin B12 in 81 women (7.0%; $CI_{95\%}$: 5.7-8.6), and only 1 woman had a reduction in intra-erythrocyte folate concentrations. No women had a concomitant reduction of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and Hb concentrations. However, 13 women (1.1%, $CI_{95\%}$: 0.6 - 1.9) had a concomitant deficiency of Hb and vitamin B12.

As can be seen in Table 1, intra-erythrocyte folate concentrations were higher in women of higher age and in women with higher values of family income. Hb concentrations were lower in women who smoked compared to non-smokers. Serum vitamin B12 concentrations did not show significant variation in relation to the socioeconomic, demographic and anthropometric parameters.

Concerning food consumption, four questionnaires were excluded due to data inconsistency. The median of calories was 2,764.7 Kcal/day ($P_{25-75} = 2,083.0-3,703.4$), protein 82.3 g/day ($P_{25-75} = 63.7 - 107.8$ g/day), iron 18.7 mg/day ($P_{25-75} = 13.8-25.4$) and folic acid 553.7 μ g/day ($P_{25-75} = 434.6 - 731.7$).

The correlation between intra-erythrocyte folate concentrations and food intake of folic acid suggests a weak but significant association (Figure 1). On the other hand, the correlation between Hb concentrations with iron and protein intake and serum levels of vitamin B12 with dietary protein intake did not show a statistically significant association (Figure 1).

DISCUSSION

The WHO¹⁸ and the Brazilian Ministry of Health¹⁹ recommend universal folic acid supplementation for women of childbearing age who wish to become pregnant and for all pregnant women until the end of pregnancy, which may explain the prevalence of extremely

low intra-erythrocyte folate concentrations, below the reference values in the sample, which was composed predominantly of young adult women who had low schooling and low family income. As in the case of the United Kingdom, Canada, Chile, Costa Rica and the United States, the Brazilian government established compulsory fortification of wheat and corn flours with iron and folic acid²⁰, effectively implemented in the country as of June 2004.

In theory, the consumption of fortified foods may contribute to maintaining an adequate nutritional status and preventing deficiency of micronutrients essential to the organism. Although food fortification results are expected over the long term, positive effects can be observed more rapidly as the physiological need is greater¹⁵.

Although above the recommended cut-off limit, the adolescents in the sample had intra-erythrocyte folate concentrations lower than of women of a greater age. A possible explanation for this result would be due to the adolescents generally not having healthy eating habits²¹, consequently consuming low amounts of green leaves and vegetables, which are sources of folic acid, besides having less knowledge and/or care with health. Likewise, women at the lowest family income level may also have limitations in knowledge and/or health care, as well as a lower purchasing power for healthy foods, sources of minerals and vitamins such as folic acid. In this study, they had intra-erythrocyte folate concentrations lower than women with a higher family income.

Alsammani *et al.* (2017)⁷, evaluating the knowledge and use of folic acid supplements in pregnant women aged 18-45 years in Sudan, showed that about 80% of women interviewed had heard about folic acid, but only 8.9% knew that folic acid reduced the occurrence of congenital defects and only 3.2% used folate during the pre-conception period, while 55.2% used it during the first trimester of gestation. High schooling, urban living and a higher number of medical visits during the prenatal period were significantly associated with an increased knowledge and use of folic acid supplementation.

Nauman *et al.* (2018)⁶, in a case-control study with Pakistani mothers, found significantly higher intra-erythrocyte folate concentrations ($p < 0.0001$) in mothers of the control group (337.2 ± 18.42 ng/mL) compared to mothers considered as a case study (104.1

± 9.17 ng/mL), defined as women with prenatal diagnosis of defects in the fetal neural tube confirmed by prenatal ultrasonography and mothers of neonates with neural tube malformations who had not received prenatal diagnosis of defects in the fetal neural tube.

Vitamin B12 deficiency ranks second in the ranking of assessed deficits (7.0%), which is an alert to the population in this ecological context, as there are few studies addressing the lack of vitamin B12 in women at a fertile age, and food supplementation programs do not include this vitamin. Another limitation to further explore the results of this study was the lack of association between serum levels of vitamin B12 and socio-economic, demographic and anthropometric parameters.

Brazilian studies on pregnant women such as Thame *et al.* (1998)²², who evaluated pregnant women in the city of São Paulo, found 11.8% of vitamin B12 deficiency and no cases of folate deficiency after confirmation of DTN in their fetuses. Giugliani *et al.* (1984)²³ diagnosed, in women in labor in Porto Alegre, 5.9% of folic acid deficiency and 21.9% of deficiency of vitamin B12. A population-based case-control study conducted in Canada showed a nearly three-fold increase in neural tube defects in the presence of low maternal vitamin B12 levels²⁴.

The prevalence of anemia found in our series (12%) is considered mild, according to the WHO¹⁵, which presents a proposal to classify anemia of public health importance in populations based on the prevalence of Hb blood levels.

Costa *et al.* (2013)²⁵, studying a sample of 761 non-pregnant women aged 10-49 years in the state of Pernambuco, found a prevalence of anemia of 15.1% (CI_{95%}: 12.7-17.8) using hematological levels of Hb, a value comparable to that found in our case series. Another study developed by Cavalcanti *et al.* (2014)²⁶, carried out in the municipality of Gameleira, Zona da Mata Sul of Pernambuco, observed that 38.8% (CI_{95%}: 33.2 - 44.4) of women of childbearing age presented anemia. It should be taken into account that this region is one of the most economic fragile in the state.

Habib *et al.* (2018)²⁷, in a population-based study conducted in Pakistan with 7,491 non-pregnant women aged 15-49, found an 18.1% prevalence of anemia, also considered to

be mild and slightly higher than the estimated as the overall prevalence of anemia, which is around 17%²⁸. The authors also showed that the chance of anemia in women increases in the absence of supplementation of folic acid and iron during the last pregnancy, as well as in women with a history of more than four pregnancies, with a short delivery interval (less than 24 months) and in families living in food insecurity.

Although these prevalence levels are considered mild, the risks of anemia during pregnancy are high. A systematic review with meta-analysis²⁹ presented significantly higher risks of low birth weight (RR: 1.31, CI_{95%}: 1.13 - 1.51), preterm birth (RR 1.63, CI_{95%}: 1.33 - 2.01), perinatal mortality (RR: 1.51, CI_{95%}: 1.30 - 1.76) and neonatal mortality (RR: 2.72, CI_{95%}: 1.19 - 6.25) in women who presented anemia during pregnancy.

In women evaluated in this study, Hb concentrations were lower in smokers compared to non-smokers. Maternal smoking during pregnancy continues to pose a major public health problem since no woman should smoke during pregnancy. Nicotine is extremely harmful to the development of the fetus. In addition, children exposed to nicotine tend to develop several health problems throughout their lives, including impaired function of the endocrine, reproductive, respiratory, cardiovascular and neurological systems³⁰.

The caloric and protein intake median seems to have contributed to the high number of overweight and obese women. However, such women did not present a statistically significant difference in serum levels of vitamin B12, intra-erythrocyte folate and Hb when compared to low-weight and eutrophic women. The median of intake of iron and folic acid, 18.7 mg/day and 553.7 µg/day, respectively, was higher than the recommended daily intake³¹, which for women of child-bearing age is 15 to 18 mg of iron per day and 400 µg of folic acid per day. It was not possible to quantify the dietary intake of vitamin B12 by the DietSys software, with a daily intake recommendation being 2.4 µg/day³¹. A study conducted in an ecological context similar to the one in this study reported that all pregnant women evaluated, including anemic ones, had inadequate iron consumption in the diet³², because, during pregnancy, the recommendation of daily iron intake increases to 27 mg/day³¹.

A plausible explanation for the poor association between dietary intake and the biochemical concentrations evaluated suggests that homeostatic control exists, and although there may be an increase in nutrient intake, biochemical concentrations appear to remain stable near the recommended cut-off point.

Among the limitations of the study, we should highlight a methodological limitation, considering that the FIQ depends on the interviewee's memory and, besides, information about the consumption of some foods may be lost, since, in general, this instrument is not possible include all food items consumed by a population. To minimize this bias, we adopted a validated questionnaire in a population similar to this study, which contains a list to investigate the consumption of the same nutrients. Another limitation of this study would be the fact that the diagnosis of anemia was based on blood levels of Hb. The use of other indicators, such as ferritin, serum iron, total iron binding capacity, free erythrocyte protoporphyrin, percentage of transferrin saturation and, above all, transferrin receptors would contribute to a better characterization of both iron deficiency and of iron deficiency anemia. However, the low cost and relative ease of determination of hematimetric parameters, together with the fact that the WHO recommends the use of these indicators for epidemiological studies, justify its use.

Serum vitamin B12 deficiency outpacing intra-erythrocyte folate is worrying due to the lack of programs to fight against vitamin B12 insufficiency, for example, the supplement of foods. Age and income were directly related to intra-erythrocyte folate concentrations. Despite the strategies to eradicate anemia, this nutritional deficiency was dominant. In this population, these nutritional deficiencies were not concomitant. Food consumption suggests that there is a homeostatic control to maintain equilibrium at biochemical concentrations. In this study, many studied variables were not associated with intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and Hb concentrations, which may be related to the relative homogeneity of the investigated population, since only women of childbearing age attended gynecological outpatient clinics of the municipal network of the city of Recife.

CONFLICTS OF INTEREST

We declare that there is no conflict of interest or existence of economic interest.

FUNDING

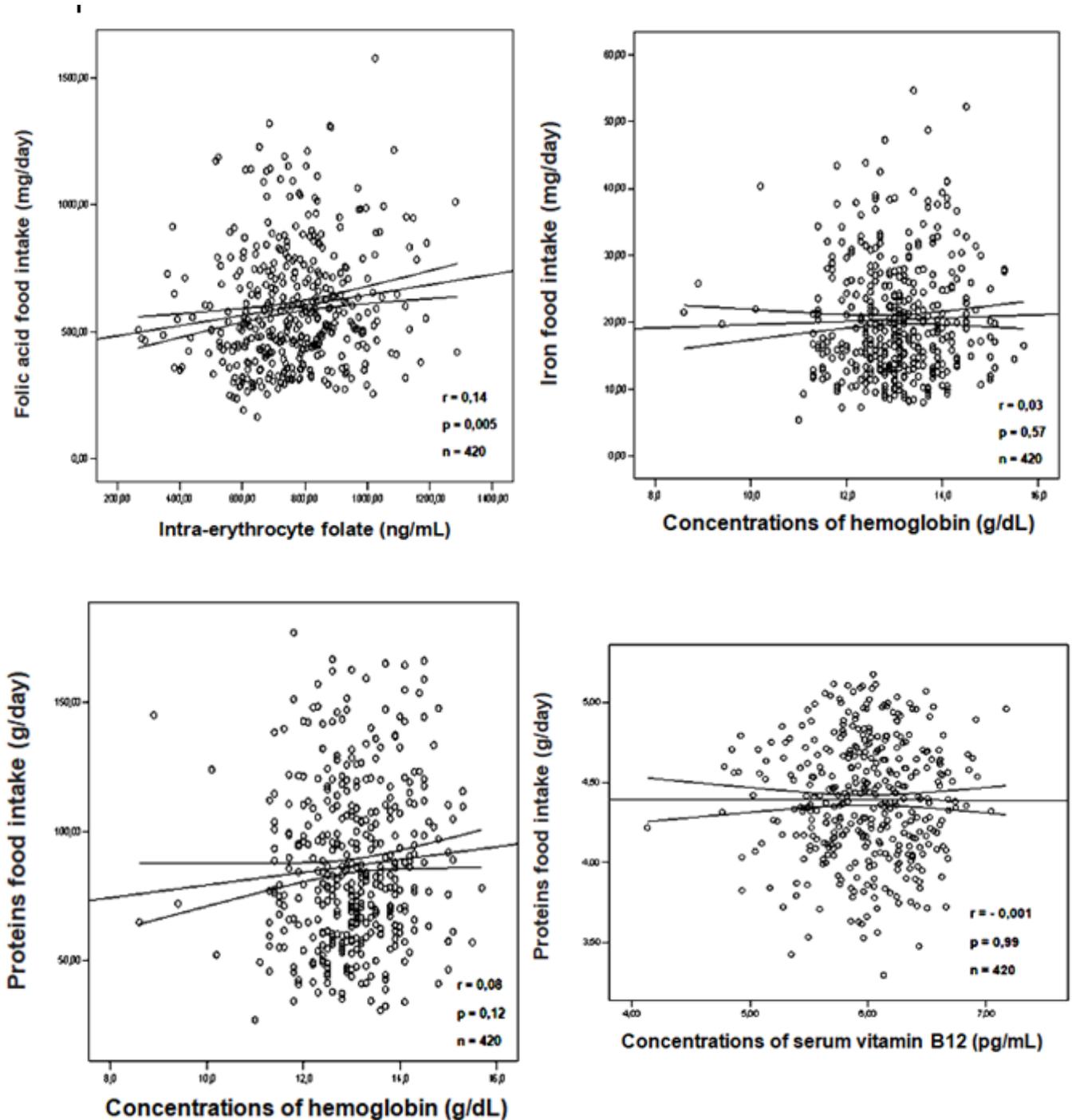
This study is part of the research "Impact of the consumption of iron and fortified wheat meal and corn meal on the intra-erythrocyte folate concentrations of women of childbearing age and incidence of neural tube defects in newborns in the city of Recife", carried out in from October 2007 to July 2008, made possible by the association (no. 401893/2005-7) with the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Table 1: Concentrations of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin according to socioeconomic, demographic and anthropometric variables in women at childbearing age. Recife, Northeast Brazil.

	Intra-erythrocyte folate		Vitamin B 12		Hemoglobin	
Age (years)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
15 - 19	126	651 (540 - 746)	127	365 (330 - 403)	127	13.0 (12.5 - 13.5)
20 - 45	1045	713 (593 - 827)	1029	365 (365 - 403)	1049	13.0 (12.5 - 13.6)
p		0.00*		0.102***		0.633*
Number of people in the household	n	\bar{X} (SD)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
1 - 3	422	703 (181)	418	389 (282 - 512)	424	13.0 (12.5 - 13.7)
4 - 7	685	707 (181)	674	399 (298 - 521)	689	13.0 (12.4 - 13.6)
8 - 14	61	693 (162)	62	398 (312 - 494)	61	13.0 (12.4 - 13.9)
p		0.528**		0.397*		0.417*
Family income (R\$)	n	\bar{X} (SD)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
< 400.00	294	691 (183) ^b	288	365 (365 - 403)	295	13.0 (12.5 - 13.6)
400,0 - 760,0	500	696 (183) ^b	492	365 (365 - 403)	501	13.0 (12.5 - 13.6)
> 760.00	369	739 (169) ^a	368	365 (365 - 403)	372	13.0 (12.5 - 13.7)
p		0.001**		0.929**		0.439*
Education level	n	\bar{X} (SD)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Until elementary school	748	705 (184)	738	403 (365 - 403)	751	13.0 (12.5 - 13.6)
High school and higher	410	703 (173)	406	365 (365 - 403)	412	13.1 (12.4 - 13.6)
p		0.867***		0.147***		0.582*
Child with fetal malformation	n	\bar{X} (SD)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Yes	35	719 (179)	36	403 (365 - 446)	36	13.0 (12.6 - 13.6)
No	886	716 (182)	869	403 (365 - 403)	889	13.0 (12.5 - 13.6)
p		0.928***		0.604***		0.667*
Smoker	n	\bar{X} (SD)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Yes	123	682 (181)	120	403 (365 - 403)	123	13.0 (12.4 - 13.6)
No	1044	708 (180)	1032	403 (365 - 403)	1049	13.4 (12.8 - 13.9)
p		0.130***		0.838***		0.000*
BMI	n	Med (P₂₅ - P₇₅)	n	MG (IC_{95%})	n	Med (P₂₅ - P₇₅)
Low weight	69	679 (595 - 785)	70	403 (365 - 446)	70	12.9 (12.4 - 13.5)
Eutrophy	569	698 (585 - 818)	562	365 (365 - 403)	572	13.0 (12.4 - 13.6)
Overweight	330	712 (577 - 826)	325	403 (365 - 403)	331	13.0 (12.5 - 13.6)
Obesity	196	726 (607 - 827)	192	403 (365 - 403)	196	13.1 (12.5 - 13.7)
p		0.484*		0.143**		0.319*

* Kruskal Wallis test. ** Anova *one-way*. Test of Bonferroni *posteriori*. *** Student *t*-test for unpaired data. \bar{X} = mean, SD = standard deviation, Med = median, P₂₅₋₇₅ = 25th and 75th percentile, GM = geometric mean, CI_{95%} = 95% confidence interval. ^{a, b} Different letters mean statistically significant differences between categories.

Figure 1: Pearson's correlation between dietary intake of folic acid, iron and protein with concentrations of intra-erythrocyte folate, hemoglobin, and serum vitamin B12 in women at childbearing age. Recife, Northeast Brazil.



REFERENCES

1. Thompson B. & Amoroso L. (editors). *Improving Diets and Nutrition: Food-Based Approaches*. 2014. Rome and Wallingford: FAO and CAB International.
2. Harding KL, Aguayo VM, Webb P. Hidden hunger in South Asia: a review of recent trends and persistent challenges. *Public Health Nutrition*. 2017; 19:1-11. doi: 10.1017/S1368980017003202.
3. Iqbal S, Ekmekcioglu C. Maternal and neonatal outcomes related to iron supplementation or iron status: a summary of meta-analyses. *The Journal of Maternal Fetal & Neonatal Medicine*. 2017; 5:1-13. doi: 10.1080/14767058.2017.1406915.
4. Guilbert JJ. The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Education for Health*. 2003; 16(2):230.
5. Salcedo-Bellido I, Martínez-Galiano JM, Olmedo-Requena R, Mozas-Moreno J, Bueno-Cavanillas A, Jimenez-moleon JJ, Delgado-Rodríguez, M. Association between Vitamin Intake during Pregnancy and Risk of Small for Gestational Age. *Nutrients*. 2017; 23;9(12).pii:E1277. doi: 10.3390/nu9121277.
6. Nauman N, Jalali S, Shami S, Rafiq S, Grobe G, Hilger AC, et al. Low maternal folate concentrations and maternal MTHFR C677T polymorphism are associated with an increased risk for neural tube defects in offspring: a case-control study among Pakistani case and control mothers. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2018; 27(1):253-260. doi: 10.6133/apjcn.032017.10.
7. Alsammani MA, Kunna A, Adam EM. Factors associated with folic acid knowledge and intake among pregnant women in Sudan. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2017; 14;23(10):662-669. doi: 10.26719/2017.23.10.662.
8. Amitai Y, Fisher N, Haringman M, Meiraz H, Baram N, Leventhal A. Increased awareness, knowledge and utilization of preconceptional folic acid in Israel following a national campaign. *Prev Med*. 2004; 39(4):731–7. PMID:15351539
9. Fonseca EB, Raskin S, Zugaib M. Folic acid for the prevention of neural tube defects. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2013; 35(7):287–9. PMID:24080839.
10. Walle HE, Jong-Van Den Berg LT. Insufficient folic acid intake in the Netherlands: what about the future? *Teratology*. 2002; 66(1):40–3. PMID:12115779.
11. Obeid R, Murphy M, Solé-Navais P, Yajnik C. Cobalamin Status from Pregnancy to Early Childhood: Lessons from Global Experience. *Advances in Nutrition*. 2017; 15;8(6):971-979. doi: 10.3945/an.117.015628.
12. Henderson RH, Sundaresan T. Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bulletin World Health Organization*. 1982; 60:253-60.

13. Salas ZJ, Faz-Cepeda F, Castañón LNB, Martínez PCC, Obregón MCM, Torres MSC *et al.*. Consumo de folatos de mujeres en edad fértil de Apocada, N.L. México. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2003; 4(4):1-7.
14. United States of America (U.S.A.). Centers for Disease Control and Prevention. Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population 2012. Atlanta (GA): National Center for Environmental Health; April 2012.
15. World Health Organization (WHO). Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control – a guide for programme managers. Geneva, Switzerland: WHO, 2001.
16. Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin World Health Organization*. 2007;85:660-7.
17. World Health Organization (WHO). Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva; 1998.
18. Organização Mundial da Saúde (OMS). Diretriz: suplementação diária de ferro e ácido fólico em gestantes Genebra: OMS; 2013.
19. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Atenção ao pré-natal de baixo risco Brasília: MS; 2012. Cadernos de Atenção Básica, nº32. Série A. Normas e Manuais Técnicos.
20. Brasil. Ministério da Saúde (M.S.). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. Diário Oficial da União. 13 de dezembro de 2002.
21. Barreto Neto, Andrade MIS, Lima VLM, Diniz AS. Body weight and food consumption scores in adolescents from Northeast Brazil. *Revista Paulista de Pediatria*. 2015; 33(3):318-25. doi: 10.1016/j.rpped.2015.01.002.
22. Thame G, Shinohara EMG, Santos HG, Moron AF. Folato, Vitamina B12 e Ferritina Sérica e Defeitos do Tubo Neural. *RBGO*. 1998; 20(8):449-53.
23. Giugliani ER, Jorge SM, Gonçalves AL. Folate and vitamin B12 deficiency among parturients from Porto Alegre, Brazil. *Rev Invest Clin*. 1984; 36(2):133-6.
24. Ray JG, Wyatt PR, Thompson MD, Vermeulen MJ, Meier C, Wong PY, *et al.* Vitamin B12 and the Risk of Neural Tube Defects in a Folic-Acid-Fortified Population. *Epidemiology*. 2007; 18(3):362-66.
25. Costa MH, Souza AI, Braga MC, Batista Filho M. Coexistence of anemia and vitamin A deficiency in women of childbearing age in the Northeast region of Brazil. *Revista de Nutrição*. 2013; 26(5), 509-16. doi: 10.1590/S1415-52732013000500002.
26. Cavalcanti DS, Vasconcelos PN, Muniz VM, Santos NF, Osório MM. Iron intake and its association with iron-deficiency anemia in agricultural workers' families from the Zona da

- Mata of Pernambuco, Brazil. *Rev. Nutr.* 2014; 27(2): 217-27. doi: 10.1590/1415-52732014000200008.
27. Habib MA, Raynes-Greenow C, Soofi SB, Ali N, Nausheen S, Ahmed I, et al. Prevalence and determinants of iron deficiency anemia among non-pregnant women of reproductive age in Pakistan. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.* 2018; 27(1):195-203. doi: 10.6133/apjcn.042017.14.
28. World Health Organization (WHO). "Anemia policy brief". 2014. Available from: http://www.who.int/nutrition/topics/globaltargets_anemia_policybrief.pdf
29. Rahman MM, Abe SK, Rahman MS, Kanda M, Narita S, Bilano V, *et al.* Maternal anemia and risk of adverse birth and health outcomes in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2016; 103(2):495-504. doi: 10.3945/ajcn.115.107896.
30. Holbrook BD. The effects of nicotine on human fetal development. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today.* 2016; 108(2):181-92. doi: 10.1002/bdrc.21128
31. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: applications in dietary assessment.* Washington (DC): National Academy Press; 2000.
32. Oliveira ACM, Barros AMR, Ferreira RC. Fatores de associados à anemia em gestantes da rede pública de saúde de uma capital do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia.* 2015; 37(11):505-511. doi.org/10.1590/SO100-720320150005400.

APÊNDICE E: ARTIGO ENVIADO PARA A REVISTA CIÊNCIA E SAÚDE COLETIVA

Consumo de ferro, ácido fólico e nutrientes facilitadores e inibidores da absorção do ferro em mulheres em idade fértil

Iron consumption, folic acid and nutrients that facilitate and inhibit iron absorption in women of childbearing age

Rafaella de Andrade Silva Cavalcanti, Alcides da Silva Diniz, Ilma Kruze Grande de Arruda

RESUMO

Esta pesquisa objetivou avaliar o consumo alimentar de ferro e de ácido fólico, além de nutrientes facilitadores e inibidores do ferro, bem como a associação desses nutrientes com variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas em mulheres em idade reprodutiva. Usou-se um delineamento transversal, com amostra aleatória de 424 mulheres em idade fértil, atendidas em um ambulatório de ginecologia do Sistema Único de Saúde da cidade do Recife. Foi utilizado um questionário de frequência alimentar e um questionário para abordar variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre a ingestão de calorias e de nutrientes ajustados pelo consumo calórico, segundo o índice de massa corporal e o número de pessoas no domicílio. No entanto, foi observada diferença significativa no consumo de ferro, fibras, vitamina C e cálcio quanto à faixa etária, escolaridade e renda. O consumo de ferro apresentou uma correlação fortemente positiva com o de ácido fólico, de proteínas, de fibras, de cálcio e de zinco, embora, essa correlação tenha se mostrado discreta com o consumo de vitamina C. Para uma adequada compreensão do consumo de nutrientes isolados, deve-se avaliar o grau de sinergismo e antagonismo entre os nutrientes da dieta, além de fatores sócio-econômicos e demográficos que interferem na ingestão alimentar.

Palavras-chave: Consumo alimentar; Absorção; Ferro; Ácido fólico; Mulheres

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the iron and folic acid intake, the nutrients that facilitate and inhibit iron, as well as the association of these nutrients with socioeconomic, demographic and anthropometric variables in women of reproductive age. A cross-sectional design was used, with a random sample of 424 women of fertile age in the city of Recife. A food frequency questionnaire and a questionnaire were used to address socioeconomic, demographic and anthropometric variables. There was no statistically significant difference between calories and nutrient intake adjusted for caloric intake, according to the body mass index and the number of people in the household. However, a significant difference was observed in the consumption of iron, fiber, vitamin C and calcium in terms of age, schooling and income. Iron intake had a strongly positive correlation with folic acid, protein, fiber, calcium and zinc, although this correlation was shown to be inconsistent with the consumption of vitamin C. For an adequate understanding of nutrient consumption isolated, the degree of synergism and antagonism between dietary nutrients should be evaluated, as well as socioeconomic and demographic factors that interfere with food intake.

Key words: Food Consumption; Absorption; Iron; Folic Acid; Women

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o Brasil experimentou uma mudança significativa nos padrões alimentares da população, fenômeno que faz parte do contexto da transição nutricional. Tem sido observada uma redução na qualidade dos alimentos consumidos, com o aumento na ingestão de alimentos industrializados, ricos em gorduras *trans* e saturadas, carboidratos refinados e sódio, *pari passu* com a redução do consumo de fibras, vitaminas e minerais, o que determinou modificações no estado nutricional dos indivíduos, em todas as faixas etárias, resultando no aumento da ocorrência do sobrepeso e da obesidade¹. Essas mudanças contribuíram para o incremento na prevalência das deficiências de micronutrientes, configurando um problema de saúde pública no Brasil e também em países em desenvolvimento²⁻⁴.

Mulheres em idade reprodutiva representam um grupo de alta vulnerabilidade para o desenvolvimento de carências nutricionais, especialmente deficiência de ferro e nutrientes relacionados a uma gestação adequada, como o ácido fólico, em consequência da elevada demanda de nutrientes para suprir, tanto a necessidade da mãe, quanto do feto⁵. Cerca de um terço das mulheres brasileiras em idade fértil apresentam-se anêmicas antes da gravidez⁶.

A avaliação do consumo alimentar de mulheres em idade reprodutiva ainda não está amplamente disseminada no Brasil, sobretudo na região Nordeste. Embora a investigação dos padrões alimentares venha sendo cada vez mais utilizada⁷⁻⁹, ainda é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas, em populações específicas, que objetivem conhecer o perfil de ingestão de nutrientes das populações e sua associação com o quadro de morbidades. Logo, esse estudo teve como objetivo avaliar o padrão de consumo alimentar de ferro e de ácido fólico, além de nutrientes facilitadores e inibidores do ferro, bem como a associação

desses nutrientes com variáveis sócio-econômicas, demográficas e antropométricas em mulheres em idade reprodutiva.

MÉTODOS

Trata-se de um delineamento transversal, com uma amostra aleatória de mulheres em idade fértil, atendidas em um ambulatório de ginecologia da rede municipal do Sistema Único de Saúde (SUS), no período de 2007 a 2009, no Distrito Sanitário VI, da cidade do Recife-PE. Para o cálculo do tamanho amostral, tomou-se como base os pressupostos de uma prevalência de inadequação do consumo de folato da ordem de 20% (baseado em dados do estudo piloto), com uma margem de erro de 4% e uma confiabilidade de 95%, sendo estimada uma amostra mínima de 385 mulheres, utilizando-se a fórmula¹⁰: $n = [z_{\alpha/2}^2 \times p \times (100 - p)] / d^2$. No sentido de corrigir eventuais perdas, foi feito um acréscimo de 10%, resultando em 424 mulheres avaliadas.

Foram estudadas mulheres com idade entre 15 e 45 anos e adotados os seguintes critérios de exclusão: alterações menstruais do tipo hipermenorragia (> 80 mL de perdas menstruais por ciclo) ou hipermenorréia (> 8 dias de perdas menstruais por ciclo); portadoras de patologias hematológicas (anemia falciforme), endócrinas (diabetes *mellitus*, distireoidismos ou distúrbios hormonais de crescimento) ou auto-imunes (lúpus e outras doenças que requerem dieta especial e/ou uso de drogas para controle da patologia); usuárias de drogas que interferem no metabolismo dos folatos: anti-epiléticos, aminopterina, metotrexate, trimetopim, pirimetamina e sulfassalazina e outras (nos últimos 12 meses); gestantes, lactantes ou pacientes que tiveram o último parto ou abortamento nos últimos 12 meses; usuárias de suplementos vitamínicos contendo ácido fólico ou vitamina B nos 12 meses anteriores à pesquisa.

As mulheres foram esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Em seguida, responderam a um questionário pré-codificado que abordava variáveis sócio-econômicas, demográficas, antropométricas (peso e altura) e um questionário de frequência alimentar (QFA) semiquantitativo, previamente validado por Salas *et al.*¹¹. O valor energético da dieta e o consumo de proteínas e micronutrientes foram analisados no programa DietSys software, versão 4.0.

O peso foi obtido utilizando-se balança digital (Modelo MEA-03200/Plenna), com capacidade de 150 kg e escala de 100 g, com o indivíduo descalço e indumentária mínima. A altura foi determinada com estadiômetro portátil (Alturaexata, Ltda) - milimetrada, com precisão de até (1 mm) em toda a sua extensão. As entrevistadas eram colocadas em posição ereta, descalças, com membros superiores pendentes ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a coluna de madeira. As leituras de peso e altura eram repassadas pelo entrevistador, em voz alta e registrada em formulário específico por outro entrevistador, que repetia os valores, também em voz alta, antes de registrá-los, para evitar possíveis erros no repasse das informações. Para garantir a acurácia e reprodutibilidade adequada nas mensurações, a equipe de antropometristas foi treinada segundo as normas técnicas, com avaliações das concordâncias intra e interavaliadores. Foram aferidas duas medidas de peso e altura e quando a diferença entre as avaliações excediam 0,5 cm para altura e 100 g para o peso, repetia-se a mensuração e anotavam-se as duas medições com valores mais próximos, utilizando a média destas para efeito de registro. Para classificação do estado nutricional das mulheres, utilizou-se o Índice de Massa Corporal (IMC) determinado pela relação peso (Kg)/altura (metros²), sendo utilizados os limites de corte recomendados pela OMS (1998)^{add} referência: baixo peso: $IMC < 18,5\text{kg/m}^2$; eutrofia: $IMC \geq 18,5\text{kg/m}^2$ e $< 24,9\text{kg/m}^2$; sobrepeso: $IMC \geq 25,0\text{kg/m}^2$ e $< 29,9\text{kg/m}^2$ e obesidade: $\geq 30,0\text{kg/m}^2$.

A base de dados foi compilada no programa Epi Info versão 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, U.S.A.), com dupla entrada e uso do módulo “validate” para identificar e corrigir eventuais inconsistências no processo de digitação. Para as análises estatísticas, foi empregado o pacote estatístico SPSS versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Inicialmente, as variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Calorias, proteínas, ferro, ácido fólico e vitamina C não apresentaram distribuição normal, mesmo após transformação logarítmica (L_N), sendo descritas pela mediana e os respectivos percentis 25 e 75. Cálcio e zinco apresentaram distribuição normal após L_N e foram descritos pela média geométrica e intervalo de confiança. Quando os critérios de normalidade e homocedasticidade foram atendidos, as médias foram comparadas pelo teste *t* de student para dados não pareados (2 médias) e Anova one-way (> 2 médias), utilizando-se como teste *a posteriori*, o teste de comparações múltiplas de Bonferroni; quando esses critérios não foram atingidos, foram utilizados os testes “U” de Mann Whitney (2 medianas) e o de Kruskal Wallis (> 2 medianas), com o teste “U” de Mann Whitney *a posteriori*. A distribuição do consumo de cálcio apesar de ter atendido ao critério de normalidade, quando avaliado de acordo com a renda familiar das mulheres, não atendeu ao critério de homogeneidade da variância e, nesse caso, foi descrito pela mediana e os respectivos percentis 25 e 75. A correlação entre variáveis com distribuição gaussiana ou com, pelo menos, uma das variáveis com distribuição normal, foi avaliada pelo teste de correlação de Pearson e entre aquelas com distribuição não gaussiana pelo teste de correlação de Spearman. As proporções foram descritas procedendo-se uma aproximação da distribuição normal, à distribuição binomial, pelo intervalo de confiança de 95%. Foi utilizado o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e registrado no Conselho Nacional de Ética em

Pesquisa (CONEP), sob o nº 907, em 15 de dezembro de 2006. Os pesquisadores realizaram palestras periodicamente para as mulheres entrevistadas, com orientações sobre alimentação saudável e, para as que apresentaram consumo inadequado de algum nutriente, foi feito o encaminhamento para consulta com atendimento individualizado pelo nutricionista na rede municipal do SUS de Recife/Pernambuco, Nordeste do Brasil.

RESULTADOS

Das 424 mulheres que atenderam aos critérios de inclusão, 4 foram excluídas por inconsistência dos dados. A idade média foi de $30,9 \pm 8,1$ anos, com mediana de 4 pessoas ($P_{25-75} = 3 - 5$) residindo por domicílio, renda familiar de R\$ 500,0 ($P_{25-75} = 380,0 - 840,0$), a maioria (62,4%) tinha escolaridade até ensino fundamental completo, 5,2% apresentaram baixo peso ($IMC < 18,5 \text{Kg/m}^2$) e 45,5% excesso de peso ($IMC > 24,9 \text{Kg/m}^2$), das quais 17,6% estavam com obesidade ($IMC \geq 30,0 \text{Kg/m}^2$).

A mediana das calorias ingeridas foi de 2764,7 Kcal/dia ($P_{25-75} = 2083,0 - 3703,4$), de proteínas 82,3 g/dia ($P_{25-75} = 63,7 - 107,8$ g/dia), de ferro 18,7 mg/dia ($P_{25-75} = 13,8 - 25,4$), de vitamina C 515,3 mg/dia ($P_{25-75} = 191,1 - 1195,8$), de ácido fólico 553,7 μg ($P_{25-75} = 434,6 - 731,7$) e de fibras 33,3 g/dia ($P_{25-75} = 24,3 - 46,3$). A ingestão média de cálcio foi de $581,5 \pm 264,5$ mg/dia e de zinco $13,6 \pm 5,7$ mg/dia.

Conforme pode ser observado na tabela 1, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre a ingestão de calorias e de nutrientes ajustados pelo consumo calórico, segundo o IMC e o número de pessoas no domicílio. No entanto, o maior consumo de ferro foi verificado entre as mulheres mais jovens, enquanto o consumo de fibras foi mais elevado nas mulheres de maior faixa etária. Quanto à renda, constatou-se maior consumo de vitamina C nas mulheres com os menores valores de renda familiar. Por sua vez, o consumo calórico e

de cálcio foi maior nas mulheres com renda mais elevada, e o consumo de cálcio também foi maior entre aquelas com escolaridade mais elevada (Tabela 1).

O consumo de ferro e de fibra, quando ajustado de acordo com a idade e a renda familiar, mostrou diferença estatisticamente significativa entre as mulheres de maior faixa etária. As mulheres na faixa etária mais elevada e com menor renda apresentaram menor consumo de ferro e de fibras, quando comparadas com aquelas de maior renda. (Tabela 2). O consumo de ferro apresentou uma correlação fortemente positiva com o consumo de ácido fólico, de proteínas, de fibras, de cálcio e de zinco, embora, essa correlação tenha se mostrado discreta com o consumo de vitamina C (Tabela 3).

DISCUSSÃO

O perfil da amostra estudada, constituído, em sua maioria, por mulheres adultas jovens, que apresentaram baixa escolaridade e baixa renda familiar, sugere uma acessibilidade limitada a uma alimentação adequada, resultando numa baixa diversidade no consumo de micronutrientes e elementos traços. Resultados similares foram descritos por DEMÉTRIO *et al.*¹² que evidenciaram maior prevalência de carências nutricionais, principalmente, entre as gestantes que estavam em situação de insegurança alimentar, no mesmo espaço geográfico da nossa pesquisa.

Em países em situação de extrema pobreza, como na Papua-Nova Guiné, entre mulheres não grávidas, não foi encontrado nenhum caso de obesidade, cerca de 22,8% estavam desnutridas e 35,4% anêmicas¹³. Entretanto, na nossa casuística, apesar da baixa ingestão de alguns micronutrientes, o consumo calórico total foi elevado, mesmo no extrato social de baixa renda familiar. Apenas 5,2% das mulheres apresentaram baixo peso e quase metade da amostra com excesso de peso (45,5%), o que seria um reflexo do consumo de

alimentos de alta densidade calórica, em virtude do seu baixo custo, porém com composição inadequada de micronutrientes e elementos traços.

O estado nutricional das mulheres no período perigestacional é importante para um desfecho favorável da gravidez¹⁴. Com o intuito de diminuir a prevalência de anemia em gestantes e seus conceptos, além de defeitos no tubo neural, o governo brasileiro estabeleceu a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico¹⁵. Por sua vez, lançou o ‘Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil’, que dentre seus objetivos, visa alcançar até 2022 a redução na prevalência de obesidade em crianças, adolescentes e adultos e aumentar o consumo de frutas e legumes na população para reduzir as carências de micronutrientes¹⁶.

Embora o padrão de consumo alimentar não tenha apresentado diferença significativa entre as mulheres, no que diz respeito ao estado nutricional e ao número de pessoas no domicílio, esse padrão variou em função da idade, da renda e da escolaridade. Entre as adolescentes, o consumo de ferro foi significativamente maior que nas demais faixas etárias, fato que poderia ser atribuído ao elevado consumo de alimentos industrializados processados e ultra-processados, que possuem baixo custo. Deve-se salientar que grande parte destes alimentos são enriquecidos com ferro, como biscoitos recheados e bolos, ou alimentos de origem animal, tais como hambúrgueres, salsichas e carnes processadas que apresentam elevada quantidade de ferro e alta densidade calórica. Deve-se ressaltar também que, esse grupo etário também apresentou maior consumo calórico que as demais faixas etárias, no entanto sem diferença estatisticamente significativa.

Estudo conduzido por BARRETO NETO *et al.*¹⁷, realizado com adolescentes do mesmo contexto ecológico da nossa casuística, encontrou resultados similares, onde foi observada uma elevada prevalência de excesso de peso e alto consumo de alimentos processados e ultra-processados, que são considerados fatores de risco para desenvolvimento

de excesso de peso. Por sua vez, SILVA & SILVA¹⁸ em outra pesquisa, também realizada no Nordeste do Brasil, verificaram baixo consumo de frutas, verduras e legumes em adolescentes. O consumo inadequado de frutas foi da ordem de 79,1% e o de verduras e legumes de 90,6%, o que pode ter contribuído para o crescente aumento nas prevalências de excesso de peso e carência de micronutrientes.

O consumo de fibras mais elevado nas mulheres de maior faixa etária poderia ser atribuído à maior preocupação dessas mulheres com a qualidade da alimentação, em virtude de alterações na composição corporal e no balanço energético, que ocorrem com o envelhecimento e favorecem o ganho de peso¹⁹. Logo, seria plausível supor que essas mulheres iniciaram modificações na alimentação, com dieta para perda ponderal e, destarte, apresentaram um padrão alimentar mais saudável, com dieta rica em fibras.

Azevedo *et al.*⁷ constataram que indivíduos adultos obesos tinham maior consumo de alimentos fonte de fibras, a exemplo de frutas, legumes e verduras, pois seriam indivíduos que já estariam em esquema terapêutico, com dieta para perda ponderal e, portanto, apresentando um padrão alimentar saudável. Esse fenômeno da causalidade reversa também pode ter sido observado no nosso estudo, pois não houve diferença estatisticamente significante entre a ingestão calórica das mulheres de renda mais elevada com aquelas de renda intermediária. Embora a renda pudesse ser até 10 vezes maior, a quantidade de calorias ingeridas não variou em função dessa renda mais elevada, considerando que, possivelmente, essas mulheres apresentam maior preocupação com a saúde e a estética e, conseqüentemente, tendem a apresentar uma maior regulação e controle da ingestão calórica.

O fato de o menor consumo calórico ocorrer nas mulheres com menor renda poderia ser explicado pela menor acessibilidade financeira para compra de gêneros alimentícios. No entanto, sabe-se que a quantidade de calorias não determina a qualidade da alimentação. Estudo realizado na Espanha²⁰ mostrou que o custo diário mais elevado da alimentação estaria

associado à ingestão alimentar mais saudável. Logo, o maior nível socioeconômico é um determinante para o maior poder de compra de alimentos e maior qualidade da dieta. No nosso estudo, o cálcio, nutriente presente em grande quantidade em produtos lácteos, que são alimentos de custo elevado, apresentou maior consumo nas mulheres de renda mais elevada. Contudo, o fato de o consumo de vitamina C ter sido mais elevado nas mulheres com menor renda, pode ser atribuído a um erro de caráter simplesmente aleatório, considerando que o consumo de vitaminas e/ou minerais é mais elevado em dietas saudáveis, que por sua vez têm custo mais elevado.

Em relação às quantidades ingeridas numa refeição ou dieta, admite-se que o organismo normal tenta manter sua homeostase e, geralmente, absorve mais quando suas reservas estão diminuídas e menos quando estão em condições adequadas ou de excesso. Por sua vez, deve-se enfatizar que o excesso de um nutriente pode interferir no aproveitamento biológico de outro²¹. A ausência de correlação positiva entre o consumo de vitamina C e o consumo de ferro é um fato preocupante, considerando-se que mulheres em idade reprodutiva apresentam perdas sanguíneas mensais e assim se tornam mais susceptíveis à ocorrência de anemia. Além disso, é bastante conhecida a interação da vitamina C com o ferro, facilitando a absorção do ferro não heme na alimentação²¹, e também que a vitamina C pode influenciar o transporte e armazenamento do ferro no organismo, por ser importante na modulação da síntese de ferritina e, portanto, no armazenamento de ferro²².

Dentre as limitações do estudo deve-se pontuar uma de caráter metodológico, considerando que o QFA depende da memória do entrevistado e, além do que, informações sobre o consumo de alguns alimentos podem ser perdidas, pois, geralmente, nesse instrumento não é possível incluir todos os itens alimentares consumido por uma população. Para minimizar esse viés, adotamos um questionário validado numa população semelhante a desse estudo, que contém uma lista para investigação do consumo dos mesmos nutrientes.

CONCLUSÃO

A avaliação do consumo alimentar é um importante instrumento para caracterizar o padrão dietético de uma população e possibilitar a detecção precoce da possível ocorrência de deficiências nutricionais. No entanto, deve-se levar em consideração, para uma adequada compreensão do consumo de nutrientes isolados, o grau de sinergismo e antagonismo entre os demais nutrientes da dieta, além de fatores sócio-econômicos e demográficos que interferem no consumo alimentar da população estudada.

COLABORADORES

RAS Cavalcanti realizou a fundamentação teórica, as análises, a interpretação dos dados e a elaboração do manuscrito. AS Diniz e IKG Arruda participaram da concepção e delineamento do projeto mais amplo, treinamento da equipe de coleta de dados, elaboração do banco de dados, revisão do artigo e aprovação final da versão a ser submetida para publicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento da pesquisa.

Numero de pessoas no domicilio	n	Med (P-ans)	Mod (P-ans)	Med (P-ans)	Med (P-ans)	Med (P-ans)	Med (P-ans)	MG (C-ans)	MG (C-ans)
1 - 3	151	2892 (2079 - 3738)	33,0 (26,0 - 38,0)	7,5 (6,0 - 8,4)	217,8 (160,0 - 258,2)	212,6 (93,0 - 416,4)	12,8 (9,3 - 17,1)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (11,0 - 13,5)
4 - 7	249	2717 (2096 - 3663)	31,9 (25,4 - 38,2)	7,6 (6,1 - 8,7)	221,1 (170,2 - 268,2)	192,4 (60,2 - 463,4)	12,6 (9,5 - 15,5)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (12,2 - 13,5)
8 - 14	20	2629 (2011 - 3780)	32,1 (28,7 - 37,6)	8,1 (7,0 - 9,1)	236,2 (204,5 - 275,2)	272,3 (84,9 - 407,2)	15,1 (11,3 - 18,6)	492,7 (403,4 - 601,8)	13,5 (11,0 - 14,9)
P-ans		0,96	0,94	0,11	0,17	0,81	0,17	0,31	0,79
MG (Kg/m²)									
< 18,5	22	3336 (2181 - 3705)	32,6 (28,5 - 37,5)	8,3 (7,3 - 9,3)	224,7 (193,8 - 270,1)	307,9 (93,7 - 587,5)	14,2 (11,6 - 18,1)	601,8 (492,7 - 736,1)	13,5 (12,2 - 16,4)
18,5 - 24,9	207	2717 (2096 - 3738)	33,0 (26,8 - 37,4)	7,7 (6,2 - 8,5)	220,9 (171,8 - 266,9)	212,6 (60,6 - 439,2)	12,9 (10,2 - 16,6)	544,6 (492,7 - 601,8)	12,2 (12,2 - 13,5)
25 - 29,9	117	2915 (2089 - 3664)	32,2 (25,6 - 36,1)	7,5 (6,0 - 8,5)	224,3 (169,4 - 262,9)	227,5 (59,6 - 417,0)	12,6 (8,9 - 16,0)	492,7 (445,9 - 544,6)	12,2 (11,0 - 13,5)
≥ 30	74	2618 (2019 - 3710)	30,6 (20,2 - 36,0)	7,5 (4,6 - 8,5)	217,4 (153,4 - 260,6)	127,5 (46,7 - 402,6)	12,3 (9,2 - 15,6)	492,7 (445,9 - 544,6)	12,2 (11,0 - 13,5)
P-ans		0,77	0,83	0,82	0,87	0,30	0,25	0,41	0,34

* Teste de Kruskal Wallis. Teste "U" de Mann Whitney á posteriori. ** **ANOVA**, one-way. Teste **Bonferroni** á posteriori. # Teste t-Student para dados não pareados. † Teste de Kruskal Wallis. Med = mediana, P-ans = percentis 25 e 75, MG = média geométrica, C-ans = intervalo de confiança.

Tabela 3: Consumo de ferro e de fibra ajustado pela renda familiar e a idade em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.

Idade (anos)	Renda familiar (R\$)	n	Ferro (mg)			Fibra (g)		
			Med	P ₂₅ - P ₇₅	p*	Med	P ₂₅ - P ₇₅	p*
15 - 18	< 400,00	10	22,9	18,4 - 33,7		33,2	23,1 - 55,4	
	400,01 - 760,00	07	25,4	18,4 - 32,0	0,85	33,2	28,8 - 43,6	0,39
	> 760,00	08	22,6	18,9 - 35,0		35,9	20,6 - 48,0	
19 - 30	< 400,00	65	18,5	15,3 - 25,4		32,3	24,6 - 48,8	
	400,01 - 760,00	67	20,9	16,0 - 29,3	0,40	34,3	24,1 - 45,9	0,15
	> 760,00	52	18,6	13,8 - 27,9		30,7	23,9 - 39,8	
31 - 45	< 400,00	70	16,4 ^a	13,0 - 21,8		32,1 ^b	23,8 - 42,2	
	400,01 - 760,00	73	17,4	12,7 - 23,6	0,01*	34,3 ^b	25,0 - 43,7	0,01*
	> 760,00	68	18,2 ^b	13,8 - 23,6		37,8 ^a	24,6 - 51,8	

* Teste de Kruskal Wallis. Teste "U" de Mann Whitney a posteriori. ^{a,b} Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante entre as categorias. Med = mediana, P₂₅-P₇₅ = percentis 25 e 75.

Tabela 4: Correlação entre o consumo de ferro com ácido fólico e com nutrientes potencialmente facilitadores e inibidores da sua absorção em mulheres em idade fértil. Recife, Nordeste do Brasil, 2007 - 2008.

Nutrientes	ρ ho	IC95% ^{***}	p [*]
Ácido Fólico (μ g)	0,821	0,78 - 0,86	0,00
Facilitadores da absorção de ferro			
Vitamina C (mg)	0,285	0,24 - 0,32	0,00
Proteína (g)	0,817	0,78 - 0,86	0,00
Inibidores da absorção de ferro			
Cálcio (mg)	0,523	0,50 - 0,54	0,00 ^{**}
Zinco (mg)	0,695	0,64 - 0,76	0,00 ^{**}
Fibra (g)	0,624	0,57 - 0,67	0,00

* Correlação de Spearman. ** Correlação de Pearson. *** Intervalo de confiança de 95%.

REFERÊNCIAS

1. CONDE, W. L.; MONTEIRO, C. A. Nutrition transition and double burden of undernutrition and excess of weight in Brazil. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100(suppl):1617S–22S. doi: 10.3945/ajcn.114.084764.
2. HAIDER, B. A. *et al.* Anaemia, prenatal iron use, and risk of adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *The British Medical Journal*. 2013;346:f3443. doi: 10.1136/bmj.f3443.
3. CAVALCANTI, D. S. *et al.* Iron intake and its association with iron-deficiency anemia in agricultural workers' families from the Zona da Mata of Pernambuco, Brazil. *Revista de Nutrição*. 2014;27(2): 217-27. doi: 10.1590/1415-52732014000200008
4. MILLER, R.; SPIRO, A.; STANNER, S. Micronutrient status and intake in the UK – where might we be in 10 years' time? *Nutrition Bulletin*. 2016;41(1):14-41. doi: 10.1111/nbu.12187.
5. FUJIMORI, E.; BALDINO, C. F.; SATO, A. P.; BORGES, A.L.; GOMES, M, N. Prevalence and spatial distribution of neural tube defects in São Paulo State, Brazil, before and after folic acid flour fortification. *Cadernos de Saúde Pública*. 2013;29(1):145-54. doi: 10.1590/S0102-311X2013000100017.
6. ARAÚJO, C. R. M. A.; UCHIMURA, T. T.; FUJIMORI, E.; NISHIDA, F.S.; VELOSO, G. B. L.; SZARFARC, S. C. Níveis de Hb e prevalência de anemia em gestantes atendidas em unidades básicas de saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2013;16(2): 535-45. doi: 10.1590/S1415-790X2013000200027.
7. AZEVEDO, E. C. C.; DIAS, F. M. R.; DINIZ, A. S.; CABRAL, P. C. Consumo alimentar de risco e proteção para as doenças crônicas não transmissíveis e sua associação com a gordura corporal: um estudo com funcionários da área de saúde de uma universidade pública de Recife (PE), Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2014;19(5):1613-1622. doi: 10.1590/1413-81232014195.06562013.
8. CEDIEL, G. *et al.* Ultra-processed foods and added sugars in the Chilean diet (2010). *Public Health Nutrition*. 2017;19(1):1-9. doi:10.1017/S1368980017001161.
9. SKOGLI, H. R. *et al.* Associations between omega-3 fatty acids and 25(OH)D and psychological distress among Inuit in Canada. *International Journal Circumpolar Health*. 2017;76(1):1302684. doi: 10.1080/22423982.2017.1302684.
10. HENDERSON, R.H.; SUNDARESAN, T. Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *WHO Bull OMS*. 1982;60:253-60.
11. SALAS, Z. J. *et al.* Consumo de folatos de mujeres en edad fértil de Apocada, N.L. México. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2003;4(4):1-7.
12. DEMÉTRIO, F.; TELES-SANTOS, C. A. S.; SANTOS, D. B. Food Insecurity, Prenatal Care and Other Anemia Determinants in Pregnant Women from the NISAMI Cohort, Brazil: Hierarchical Model Concept. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2017. doi: 10.1055/s-0037-1604093.

13. GORIS, J. M.; ZOMERDIJK, N.; TEMPLE, V. J. Nutritional status and dietary diversity of Kamea in Gulf Province, Papua New Guinea. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2017;26(4):665-670. doi: 10.6133/apjcn.052016.09.
14. BLACK, R. E. *et al.* Maternal and Child Nutrition Executive Summary of the Lancet Maternal and Child Nutrition Series. *Lancet Series*. 2013;382:1-12. doi: 10.1016/S0140-6736(13) 60988-5.
15. Brasil. Ministério da Saúde (M.S.). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. *Diário Oficial da União*. 13 de dezembro de 2002.
16. MALTA, D. C.; SILVA JR, J. B. Brazilian strategic action plan to combat chronic non-communicable diseases and the global targets set to confront these diseases by 2025: a review. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2013;22(1):151-64. doi: 10.5123/S1679-49742014000300002.
17. BARRETO NETO, *et al.* Body weight and food consumption scores in adolescents from Northeast Brazil. *Revista Paulista de Pediatria*. 2015;33(3):318-25. doi: 10.1016/j.rpped.2015.01.002
18. SILVA, D. A. S.; SILVA, R. J. S. Association between physical activity level and consumption of fruit and vegetables among adolescents in Northeast Brazil. *Revista Paulista de Pediatria*. 2015;33(2):167-73. doi: 10.1016/j.rpped.2014.09.003.
19. MICHALAKIS, K.; GOULIS, D. G.; VAZAIYOU, A.; MINTZIORI, G.; POLYMERIS, A.; ABRAHAMIAN-MICHALAKIS, A. Obesity in the ageing man. *Metabolism*. 2013;62(10):1341-9. doi: 10.1016/j.metabol.2013.05.019.
20. SCHRÖDER, H. *et al.* Monetary Diet Cost, Diet Quality, and Parental Socioeconomic Status in Spanish Youth. *PLoS ONE*. 2016;11(9):e0161422. doi: 10.1371/journal.pone.
21. COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*. 1997;10(2):87-98. doi 10.1590/S1415-52731997000200001.
22. TOTH, I.; BRIDGES, K. R. Ascorbic acid modulates ferritin translation by an aconitase/IRP switch. *Blood*. 1995;86(1):127. Supplement 1.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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



DECLARAÇÃO

Declaro que o Projeto de pesquisa nº. 907, intitulado "**Impacto da fortificação das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico na concentração de hemoglobina de gestantes atendidas em serviços de saúde da rede pública**", apresentado pela Pesquisadora **Ilima Kruze Grande de Arruda**, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira – IMIP, em Reunião Ordinária de 14 de dezembro de 2006.

Recife, 15 de dezembro de 2006.


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

**ANEXO B - COMPROVANTE DE ENVIO DE ARTIGO PARA A REVISTA
EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION**

2018EJCN0353 Receipt of New Paper by European Journal of Clinical Nutrition

E **ejcn@nature.com**
Ter 17/04, 06:13
Você ✉

17th Apr 2018

Dear Prof Cavalcanti,

Title: Concentrations of intra-erythrocyte folate, serum vitamin B12 and hemoglobin in women of childbearing age
Corresponding Author: Prof Cavalcanti

Thank you for submitting the above manuscript for consideration in the European Journal of Clinical Nutrition. The article assigned to you is 2018EJCN0353. It is important that you keep this number, as this will be your reference number for us.

Your manuscript has passed our initial quality check and has been assigned to an Editor for their consideration. We will contact you in the next ten-twelve weeks.

You can now use a single sign-on for all your accounts, view the status of all your manuscript submissions and request statistics for your published articles and download a record of your refereeing activity for the Nature journals. Please log in regularly and ensure that we have your current contact information.

In addition, Springer Nature encourages all authors and reviewers to associate an Open Researcher and Contributor ID with their account. ORCID is a community-based initiative that provides an open, non-proprietary and transparent way to help disambiguate research contributions.

<http://mts-ejcn.nature.com/cgi-bin/main.plex?el=A7BJ2DGL2A7dDw3J6A9ftdUgnVhBBPkX1eEpw6TK1E/wZ>

Yours sincerely,

Mario Soares
Editor in Chief
European Journal of Clinical Nutrition

**ANEXO C - COMPROVANTE DE ENVIO DE ARTIGO PARA A REVISTA
EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION**

Ciência & Saúde Coletiva - Manuscript ID CSC-2017-3070



Ciência & Saúde Coletiva <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

qua 06/12/2017, 17:24

Você; rafaella-andrade@hotmail.com; diniz.alcides@hotmail.com; ilmakruze@hotmail.com ✉

06-Dec-2017

Dear Prof. Cavalcanti:

Your manuscript entitled "Consumo de ferro, ácido fólico e nutrientes facilitadores e inibidores da absorção do ferro fértil." has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the C

Your manuscript ID is CSC-2017-3070.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If the street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/csc> information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Ciência & Saúde Coletiva.

Sincerely,

Ciência & Saúde Coletiva Editorial Office