

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

Efeito da suplementação de 400.00UI versus 200.00UI de palmitato de retinol no *post partum* imediato nas concentrações de retinol do leite materno.

Marília Tokiko Oliveira Tomiya

Recife - 2014

MARÍLIA TOKIKO OLIVEIRA TOMIYA

Efeito da suplementação de 400.00UI versus 200.00UI de palmitato de retinol no *post partum* imediato nas concentrações de retinol do leite materno.

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora
Prof^ª. Dra. Ilma Kruze Grande de Arruda
Co-Orientador
Prof. Dr. Alcides da Silva Diniz

Recife
2014

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

T657e Tomiya, Marília Tokiko Oliveira Tomiya.
Efeito da suplementação de 400.00UI versus 200.00UI de palmitato de retinol no *post partum* imediato nas concentrações de retinol do leite materno / Marília Tokiko Oliveira Tomiya . – Recife: O autor, 2014.
101 f.: il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora: Ilma Kruze Grande de Arruda.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.
Inclui referências e anexos.

1. Suplementação. 2. Leite humano. 3. Vitamina A. I. Arruda, Ilma Kruze Grande de (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-128)

Marília Tokiko Oliveira Tomiya

Efeito da suplementação de 400.00UI versus 200.00UI de palmitato de retinol
no *post partum* imediato nas concentrações de retinol do leite materno.

Dissertação aprovada em 26 de fevereiro de 2014.

Membros da Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª Poliana Coelho Cabral – Departamento de Nutrição/UFPE

Prof^ª. Dr^ª Florisbela Campos de Arruda Camara e Siqueira Campos –
CAV/UFPE

Prof^ª. Dr^ª Raquel Araújo Santana - Departamento de Nutrição/UFPE

Dedico essa dissertação aos meus pais,
por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos.

Agradecimentos

Aos meus familiares, Gisélia Oliveira Belém da Silva, Haroldo Ossamu Tomiya, Bruno Souza Almeida e Paula Emiko Oliveira Tomiya pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

À Prof^a Ilma Kruze Grande de Arruda, minha orientadora, pelos ensinamentos constantes, apoio, inspiração e companheirismo no desenvolvimento dessa dissertação.

Ao Prof^o Alcides da Silva Diniz, meu co-orientador, pelos ensinamentos e contribuições valiosas.

Ao Prof. Dr. Alexandre Schuller, professor do Departamento de Química Industrial, que não mede esforços em colaborar e enriquecer o nosso trabalhos.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Experimentação e análises de Alimentos, em especial as Prof^a Nonete Barbosa, Prof^a Karina Silveira e Prof^a Luciana Lima pela atenção, paciência e contribuição inestimável, sem as quais essa dissertação não seria possível.

À Prof^a Raquel Santana e ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição, pelo apoio e contribuições valiosas e pela atenção que me dispensaram durante todo esse período.

À Sidicléia, Técnica do laboratório do CAV, pelos ensinamentos indispensáveis no momento crucial dessa pesquisa.

À Bruna Merten, Daniella Wanderley, Érika Thiene, Rafaella Andrade, Renata Adrielle, Vilma Ramos, nutricionistas e amigas, pelo companheirismo, conselho, contribuições e parceria nessa jornada.

À Prof Substituta Rebecca Peixoto, pelos conselhos, palavras de incentivo, ao ombro amigo nos momentos mais difíceis e as várias contribuições nessa dissertação.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Nutrição, Cecília Arruda e Neci Nascimento, pela paciência e atenção sempre que necessário para os assuntos acadêmicos.

À Todos os que colaboraram na construção e execução da pesquisa, sem os quais este e muitos outros estudos não poderiam se realizar.

À Todas as famílias que participaram tão solícitamente, abrindo suas casas, compartilhando sua intimidade, doando o seu sangue e leite, atitudes impagáveis, que não os tornam o meio para este e outros estudos, mas o principal objetivo.

Às instituições do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - Imip, Maternidade Bandeira Filho, Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos, Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Ministério da Ciência e Tecnologia- MCT e Relthy Laboratórios, a quem agradecemos todo o apoio logístico, financeiro e desenvolvimento da pesquisa.

Antecipadamente agradeço a todos que participaram da Banca Examinadora, que com sua experiência e competência contribuíram para o enriquecimento deste estudo.

À todos meu Muito Obrigada!

“A essência do conhecimento consiste em aplicá-lo, uma vez possuído.”

Confúcio

RESUMO

A ingestão inadequada de alimentos fontes de vitamina A, durante períodos críticos de crescimento e desenvolvimento, como infância, gestação e lactação, aumentam consideravelmente o risco a saúde, levando à deficiência de vitamina A (DVA). Sabe-se que o estado nutricional da vitamina A é marginal na maioria dos recém-nascidos, e que a prevenção da sua deficiência parece ser assegurada pelo aleitamento materno. O Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A com finalidade de reduzir e controlar a DVA em crianças e mulheres no pós-parto imediato, mediante suplementação de megadoses (200.000UI) de vitamina A. Há evidência de que uma dose mais elevada (400.000UI) pode dar uma resposta benéfica mais prolongada. O presente estudo objetivou comparar o efeitos da suplementação de 400.00UI versus 200.000UI no pós-parto imediato nas concentrações de retinol no leite. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, controlado, triplo-cego, de base hospitalar, com 210 mulheres atendidas no período pós-parto imediato e acompanhadas durante os quatro primeiros meses, de dois serviços públicos de saúde na cidade do Recife, região nordeste do Brasil, no período de agosto de 2007 a março de 2009. Todas as mulheres receberam uma cápsula contendo 200.000 UI de vitamina A no pós-parto imediato e no 10º dia foram randomizadas em dois grupos de suplementação: um grupo recebeu uma segunda cápsula de vitamina A (200.000UI) e o outro grupo recebeu o placebo de vitamina A. Além dos dados socioeconômicos, demográficos, antropométricos, clínicos e obstétricos foram coletadas amostras de sangue e leite para as análises das concentrações de retinol sérico e no leite, PCR e hemoglobina. Não houve diferença nas concentrações de retinol em os grupos de suplementação em nenhum dos momentos do estudos, embora foi evidenciado que as concentrações decrescem no decorrer do tempo. A ausência de efeito adicional de uma maior dosagem de vitamina A, justifica manter a recomendação da suplementação com a dose de 200.000UI dessa vitamina.

Palavras-chave: Suplementação. Leite Humano. Vitamina A.

ABSTRACT

Inadequate intake of foods containing vitamin A during critical periods of growth and development, such as infancy, pregnancy, and lactation, significantly increase health risk, leading to vitamin A deficiency. It is known that the nutritional status of vitamin A is decreased in most newborns, and that the preventing its deficiency seems to be ensured by breastfeeding. The Ministry of Health established the National Program of Vitamin A Supplementation in order to reduce and control the vitamin A deficiency in children and women in the immediate postpartum period with megadose vitamin A supplementation (200.000IU). There is evidence that a higher dose (400.000IU) may have longer-lasting benefits. The present study aimed to compare the effects of supplementation of 400.00IU versus 200.000IU in retinol concentrations in milk from immediate postpartum mothers. This is a randomized, controlled, triple-blind, hospital-based trial composed of 210 women seen in the immediate postpartum period and followed up during the first four months. The study was conducted in two public hospitals in Recife, northeastern Brazil, between August 2007 and March 2009. All women took a capsule of 200.000 IU vitamin A in the immediate postpartum period, and in the 10th day they were randomized into two supplementation groups: one group took a second vitamin A capsule (200.000UI) and the other group took vitamin A placebo. In addition to the socioeconomic, demographic, anthropometric, clinical, and obstetric data, samples of blood and milk were collected for analysis of serum concentrations, as well as C-reactive protein and hemoglobin in the milk. There was no difference in the concentrations of serum retinol among supplementation groups, although concentrations were shown to decrease over time. No additional effect of increased dosage of vitamin A was observed, thus, the recommended dose supplementation of vitamin of 200.000IU should be maintained.

Keywords: Supplementation. Vitamin A. Milk Human.

Lista de Ilustrações

Dissertação

Diagrama 1. Captação e acompanhamento dos sujeitos	24
Figura 1. Fluxograma de distribuição da amostra das mulheres participantes da pesquisa. Recife, 2007/09.	25
Figura 2. Extração de retinol das amostras de leite.	28
Quadro 1 – Variável dependente	29
Quadro 2 – Variáveis de controle	29
Tabela 1. Critério de prevalência para definição de cegueira noturna de importância para saúde pública.	15
Tabela 2. Ponto de corte de prevalência para definição de deficiência de vitamina A na população e nível de importância para saúde pública.	16

Artigo Original

Figura 1. Consort flowchart.	41
Figura 2. Extração de retinol das amostras de leite.	42
Tabela 1. Distribuição das perdas do estudo segundo o grupo de suplementação. Recife/PE, 2007/09.	49
Tabela 2. Comparação de variáveis de controle, entre as mulheres que concluíram o estudo e as perdas. Recife-PE, 2007/09.	50
Tabela 3. Características maternas no baseline, Recife/PE, 2007-2009	51
Tabela 4. Comparação das concentrações de vitamina A no leite materno das mães no pós parto imediato, 2 e 4 meses, entre os grupos de suplementação, Recife/PE,2007-2009.	52

Lista de Abreviatura e Siglas

CIMICRON - Centro de Investigação em Micronutrientes
CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência
DVA – Deficiência de vitamina A
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IMC – Índice de Massa Corporal
Imip – Instituto de Medicina Integral Prof Fernando Figueira
IVACG - International Vitamin A Consultative Group
Kg- kilograma
KOH – Hidróxido de potássio
OMS – Organização Mundial de Saúde
PCR – Proteína C Reativa
PNDS - Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher
RE- Equivalente de Retinol
rpm – rotações por minuto
SUS – Sistema Único de Saúde
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VA – Vitamina A
UFPB –Universidade Federal da Paraíba
UI – Unidade Internacional

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3. MÉTODOS.....	20
3.1. DESENHO DO ESTUDO	20
3.2. POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO	20
3.3. CÁLCULO AMOSTRAL	21
3.4. SELEÇÃO DA AMOSTRA.....	21
3.4.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	21
3.5. PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS	22
3.5.1. ALEATORIZAÇÃO DA AMOSTRA	22
3.5.2. SUPLEMENTAÇÃO	22
3.5.3. COLETA DO LEITE MATERNO	25
3.5.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE RETINOL	26
3.5.5. PREPARO DO PADRÃO DE RETINOL	27
3.5.6. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	27
3.5.7. DEFINIÇÃO E OPERACIONALIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	29
3.5.7.1. Padronização da coleta dos dados	30
3.5.7.1.1. Medidas antropométricas.....	30
3.5.7.1.2. Diagnóstico do estado nutricional	31
3.5.7.1.3. Consumo alimentar.....	31
3.5.7.1.4. Condições de saneamento.....	32
3.5.7.1.5. Mediadas bioquímicas	32
3.5.7.1.5.1. Retinol Sérico	32
3.5.7.1.5.2. Hemoglobina	32
3.5.7.1.5.3. Proteína C reativa- PCR	33
3.7. PLANO DE ANÁLISE DOS DADOS	33
3.8. ASPECTOS ÉTICOS.....	34
3.9. VIABILIDADE FINANCEIRA.....	34
5. RESULTADOS	35
Efeito da suplementação materna de 400.000UI vesus 200.000UI no post partum imediato nas concentrações de retinol no leite materno.	
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
7. REFERÊNCIAS	56
APÊNDICES	62
APÊNDICE A – Termoc de consentimento livre e esclarecido	
APÊNDICE B – Questionário de triagem	
APÊNDICE C – Manual de Orientação da pesquisa	
ANEXOS	91
ANEXO 1 - Parecer do comitê de ética e pesquisa do instituto de medicina integral prof. Fernando figueira, Imip.	
ANEXO 2 – Instrução aos autores.	

1. APRESENTAÇÃO

A deficiência de vitamina A (DVA) pode levar a desordens, que são comuns em populações com baixas condições socioeconômicas, tais como xerofthalmia, anemia, e menor resistência à infecção (WHO, 2009), contribuindo para o aumento significativo dos índices de morbi-mortalidade materno-infantil associados a processos infecciosos (MCLAREN; FRIGG, 1999). Em 1999, estimou-se que, a cada minuto, morria uma criança de causa direta ou indiretamente atribuível à DVA e que, diariamente, muitas mulheres faleceram em decorrência de problemas evitáveis relacionados à gravidez ou ao parto, e que puderam ser agravados pela DVA (WHO, 1999).

A ingestão inadequada de alimentos fontes de vitamina A, durante períodos críticos de crescimento e desenvolvimento, como infância, gestação e lactação, aumentam consideravelmente o risco a saúde (WHO, 2009). O estado nutricional da vitamina A é marginal na maioria dos recém-nascidos, e a prevenção da sua deficiência parece ser assegurada pelo aleitamento materno, tendo-se como pressuposto que as concentrações de retinol estejam adequadas neste alimento (MILLER et al, 2002).

As reservas de vitamina A no recém-nascido podem ser influenciadas pelo estado nutricional prévio da gestante, e durante a gestação. Assim, bebês de gestantes com deficiência desse micronutriente podem nascer com estoque restrito. Da mesma forma, o teor de vitamina A no leite humano poderá depender do estado nutricional materno, principalmente no que diz respeito a esse micronutriente (BUTTE; LOPEZ-ALARCON; GARZA, 2002).

Segundo dados mais recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) os níveis baixos de retinol sérico afetam 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de gestantes, mundialmente, correspondendo a 33,3% e 15,3%, respectivamente, em países considerados de risco para DVA (WHO, 2009). No Brasil, a DVA é um problema de saúde pública nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco, Paraíba, Bahia e Amazonas (RAMALHO et al, 2002).

Na tentativa de reverter essa situação o Ministério da Saúde instituiu, através da Portaria 729 de 13 de maio de 2005, o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, intitulado 'Vitamina A Mais', com finalidade de reduzir e controlar a DVA em crianças e mulheres no pós-parto imediato que residem nas áreas consideradas de risco para a deficiência (Nordeste, região norte de Minas Gerais, Vale do Jequitinhonha, Vale do Murici e Vale do Ribeira em São Paulo) (BRASIL, 2005).

A megadose administrada no *post partum* imediato seria uma intervenção segura para a criança, no que diz respeito aos potenciais riscos de teratogenicidade, e teria a vantagem de prevenir contra os eventuais efeitos colaterais de um quadro de toxicidade, quando dada diretamente ao recém-nascido (KIRKWOOD, 2005).

Um estudo multicêntrico, financiado pela OMS, mostrou que a suplementação materna com apenas uma única megadose de vitamina A (200.000 UI de palmitato de retinol) como é recomendado atualmente pelo Ministério da Saúde do Brasil, parece não ser suficiente para assegurar níveis adequados além dos 6 meses, ou mesmo aumentar as concentrações de retinol no leite materno e, por conseguinte, no soro e nas reservas hepáticas de recém-nascidos amamentados por essas nutrizes (WHO/CDH, 1998).

Ensaio clínicos e modelos cinéticos têm indicado que suplementos com maior dosagem de vitamina A têm elevado o status orgânico de vitamina A de crianças no período neonatal (ALLEN; HASKEL, 2002; MILLER et al, 2002, ROSS, 2002). Tomando como base esses resultados, o International Vitamin A Consultative Group (IVACG) tem endossado a recomendação, aos programas de combate à DVA, da suplementação de 400.000 UI de vitamina A no *post partum* imediato, fracionada em duas doses com pelo menos um intervalo de 24 horas entre elas (DE BENOIST et al, 2001).

Dessa forma, pretende-se demonstrar se a suplementação 400.000 UI de palmitato de retinol fracionada em duas doses via oral no pós-parto imediato promove um efeito adicional nas concentrações de retinol no leite humano quando comparado com a suplementação de 200.000 UI.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Deficiência de Vitamina A

A DVA é considerada um grave problema de saúde pública principalmente nos países subdesenvolvidos, acarretando severas consequências à saúde infantil, tais como: diminuição do crescimento e do desenvolvimento, distúrbios oculares, déficit imunológico e aumento da morbimortalidade associada a infecções respiratórias, diarreia e sarampo (AZEVEDO et al, 2010).

Sua presença como um problema de saúde pública é avaliada por medição da prevalência em uma população, representada por indicadores específicos clínicos e bioquímicos (WHO, 2009). Como manifestação clínica temos a xeroftalmia, que abrange manifestações oculares decorrente da DVA, desde estágios mais suaves de cegueira noturna e mancha de Bitot a potenciais estágios de xerose corneal, ulceração e necrose (ceratomalácia) (SOMMER, 1995). A medição das concentrações de retinol sérico em uma população constitui a segunda abordagem principal, considerando que valores abaixo do ponto de corte de 0,70 $\mu\text{mol/L}$ representam DVA, e inferiores a 0,35 $\mu\text{mol/L}$, DVA grave (SOMMER e DAVIDSON, 2002).

As tabelas 1 e 2 expressam a classificação da DVA como problema de Saúde Pública segundo os valores de prevalência de cegueira noturna e níveis séricos de retinol abaixo de 0,7 $\mu\text{mol/L}$.

Tabela 1. Critério de prevalência para definição de cegueira noturna de importância para saúde pública.

Importância em Saúde Pública (grau de severidade)	Cegueira noturna	
	Crianças (24-71 meses)	Gestantes
Suave	Menor que 1%	
Moderado	Entre 1 % e menor que 5%	Maior ou igual a 5%
Grave	Maior ou igual a 5%	

Fonte: WHO, 2009.

Tabela 2. Ponto de corte de prevalência para definição de deficiência de vitamina A na população e nível de importância para saúde pública.

Importância em Saúde Pública (grau de severidade)	Retinol sérico ou no plasma < 0,7 µmol/L em pré-escolares e gestantes.
Suave	2 a 9,9%
Moderado	10% a 19,9%
Grave	Maior ou igual a 20%

Fonte: WHO, 2009.

De acordo com levantamento mais recente da OMS, a DVA no Brasil foi classificada como leve problema de saúde pública, com estimativa de prevalência de cegueira noturna em crianças em idade pré-escolar de 0,7% (IC_{95%} 0,0-9,6%) (WHO, 2009). Em concordância, Fernandes et al (2005) encontraram uma prevalência de 7% de retinol sérico abaixo de 0,7µmol/L em pré-escolares de creches públicas no Recife-PE, sendo considerado como leve problema de saúde pública.

A última Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS), realizada no país em 2006, mostrou, pela primeira vez em um inquérito nacional, as prevalências de DVA entre crianças menores de cinco anos e mulheres de 15 a 49 anos. Os dados levantados indicaram que 17,4% das crianças e 12,3% das mulheres apresentaram níveis inadequados de vitamina A, com as taxas mais altas observadas em crianças das regiões Sudeste (21,6%) e Nordeste (19,0%) (BRASIL, 2009).

Outro estudo realizado no Rio Grande do Norte que utilizaram concentrações séricas de retinol como indicadores para diagnóstico do estado de vitamina A das parturientes, encontraram valores médios de $1,34 \pm 0,38$ µmol/L ($38,4 \pm 10,9$ µg/dL) com apenas 7% dos casos com indicação de deficiência ($\leq 0,7$ µmol/L) (RIBEIRO; ARAÚJO; DIMENSTEIN, 2009).

Vitamina A e Leite materno

A vitamina A (ou os retinóides) refere-se aos três compostos pré formados que exibem atividade metabólica: retinol, retinal, ácido retinóico. (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2013). É armazenada na forma de retinol esterificado em ácidos graxos, predominantemente como palmitato de retinil. O retinal é a forma envolvidas na visão, enquanto que o ácido retinóico está envolvido no crescimento e funções celulares. (TANUMIHARDJO, 2011).

A vitamina A é essencial ao longo de toda a vida, mas a sua influência é

particularmente crítica durante períodos quando as células proliferam e diferenciam-se rapidamente, por exemplo, durante gravidez e primeira infância (AZAÏS-BRAESCO, PASCAL, 2000).

Todos os bebês nascem com estoques baixos de vitamina A e dependem de leite materno rico em vitamina A para iniciar o acúmulo e manutenção do estoque adequado, até que os alimentos complementares possam proporcionar significativos montantes adicionais de vitamina A, de acordo com as exigências crescentes da criança em crescimento (STOLTZFUS e UNDERWOOD, 1995).

Dois mecanismos são responsáveis pela transferência da vitamina A da mãe para o filho: a placenta durante a gestação e via glândula mamária (leite materno) durante a lactação. No entanto, a transferência via glândula mamária fornece 60 vezes mais vitamina A no período dos seis primeiros meses de amamentação quando comparada com a placenta, durante toda a gestação (STOLTZFUS e UNDERWOOD, 1995).

Assim, em condições ideais de aleitamento, o leite materno é considerado a mais importante fonte de vitamina A para aumentar as reservas hepáticas do recém-nascido e o grande fator protetor da DVA até os dois anos de idade, fase de maior vulnerabilidade (MARTINS et al, 2007). Entretanto, variações de componentes nutricionais do leite humano dependem do estágio de lactação, período do dia, nutrição materna, idade da mãe, idade gestacional da criança, e outros aspectos individuais e seletivos da lactante (NASCIMENTO e ISSLER, 2003).

O leite humano é a única fonte de vitamina A para o lactente alimentado exclusivamente ao seio, e a capacidade da criança de adquirir seu requerimento depende da concentração e do volume consumido (WHO, 2002). Dessa forma a promoção e proteção do aleitamento materno é uma importante estratégia de prevenção de inúmeras doenças, principalmente em crianças pertencentes a comunidades de baixas condições socioeconômicas (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998).

Diante do exposto o leite materno tem sido proposto como um indicador do *status* da vitamina A em mulheres que amamentam, porque parece ser sensível a alterações na ingestão de vitamina A (WHO, 1994), é diretamente associado com o estado nutricional materno de vitamina A (WHO, 1996; UNDERWOOD, 1994), é considerado um indicador único ou ferramenta de avaliação para mulheres lactantes com potencial de extrapolação para a crianças (TANUMIHARDJO ; PENNISTON, 2002; SURLS; LI; TANUMIHARDJO, 2006) e ainda, porque o leite materno é relativamente fácil de recolher comparado com soro. São considerados valores normais quando as concentrações de vitamina A no leite materno

encontram-se acima de 1,75 $\mu\text{mol/L}$, sendo considerados suficientes para atender às necessidades de um infante ao passo que as concentrações de 1,05 $\mu\text{mol/L}$ seria a concentração mínima para prevenir manifestações subclínicas de deficiência de vitamina A (WHO/UNICEF, 1994).

Ettyang *et al* (2004), avaliaram o consumo de vitamina A nas crianças amamentadas de uma comunidade rural do Kenia, observaram que 77,4% das crianças com seis ou mais meses receberam leite materno com conteúdo inadequado de vitamina A ($<1,05\mu\text{mol/L}$). Em um estudo realizado em Marília-SP, que avaliou as concentrações de retinol no leite maduro do banco de leite, foi encontrado que 25,7% das doadoras apresentaram DVA (retinol sérico $<0,7\mu\text{mol/L}$), e que 49,6% tinham concentrações de retinol no leite abaixo do nível recomendado, demonstrando que a DVA é um problema subclínico no Brasil (MELLO NETO *et al*, 2009). No Rio de Janeiro-RJ, Souza *et al* (2012) encontraram uma prevalência de 20,5% de DVA analisando o retinol no leite materno, e que 61,1% das nutrizes apresentavam concentração de vitamina A no leite insuficiente para constituição de reserva hepática dos lactentes.

Suplementação de Vitamina A

O Ministério da Saúde publicou a portaria 729, de 13 de maio de 2005, instituindo novamente o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, honrando o compromisso assumido, junto às Nações Unidas, de controlar a deficiência dessa vitamina e suas consequências (BRASIL, 2005).

O Programa é destinado a prevenir e/ou controlar essa deficiência nutricional mediante a suplementação com megadoses de vitamina A, em crianças de seis a cinquenta e nove meses de idade, pertencentes à Região Nordeste, ao Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais e ao Vale do Ribeira em São Paulo. O produto utilizado na suplementação de crianças e puérperas é a vitamina A na forma líquida, nas concentrações de 100.000 UI e 200.000 UI, diluída em óleo de soja e acrescida de vitamina E (BRASIL, 2005).

Quatro estudos realizados na Ásia, demonstraram que a suplementação materna única com 200.000 e 300.000UI aumentaram significativamente as concentrações de retinol no leite materno de 3 a 8 meses (STOLTZFUS *et al*, 1993; ROY *et al*, 1997; RICE *et al*, 1999; BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003).

Um estudo realizado no Rio Grande do Norte, avaliando o efeito imediato da suplementação da megadose de vitamina A (200.000UI) nas concentrações no colostro após

24 horas, constatou que houve um aumento de retinol no colostro após 24h da suplementação ($p=0,0001$). Em adição encontraram que mulheres com níveis deficientes de retinol no colostro transferiram mais retinol ao leite 24h do que grupo sem deficiência, encontrando um percentual de resposta equivalente a 326,1% e 86,5% de aumento após a suplementação, respectivamente (RIBEIRO; DE ARAÚJO, DIMENSTEIN, 2009).

Em outro estudo Bezerra et al (2009), avaliando o efeito da suplementação materna com dose única de retinil palmitato (200.00UI) no pós-parto para o fornecimento de vitamina A ao lactente via leite materno, observaram aumento estatisticamente significativo da média de retinol no colostro do grupo suplementado: 3,22 (DP=1,81) $\mu\text{mol/L}$ e 5,76 (DP=2,80) $\mu\text{mol/L}$, ($p < 0,0001$), para os tempos 0h e 24h, respectivamente. Tal aumento não aconteceu no grupo controle ($p=0,69$), uma vez que este apresentou médias basais de retinol correspondentes a 3,31 (DP=1,40) $\mu\text{mol/L}$ no tempo 0h e 3,26 (DP=1,21) $\mu\text{mol/L}$ após 24h. Aos 30 dias, a análise dos valores de retinol por volume de leite maduro também indicou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias dos grupos: 1,28 (DP=0,61) $\mu\text{mol/L}$ para o grupo controle e 1,78 (DP=1,00) $\mu\text{mol/L}$ para o grupo suplementado. Assim, as puérperas estudadas apresentavam adequação das concentrações de retinol no leite materno nos dois momentos da investigação (24h e 30 dias).

Um estudo multicêntrico, envolvendo Índia, Peru e Gana, avaliou o efeito da suplementação materna de vitamina A (200.00UI) no pós-parto imediato nas concentrações no leite, encontraram que a dose usada melhorou as concentrações de retinol no leite materno em 2 meses pós-parto, mas o efeito não se manteve a 6 ou 9 meses (BAHL et al, 2002).

Há evidência de que uma dose mais elevada pode dar uma resposta benéfica mais prolongada. Estudos que utilizaram uma dose de 300.000UI, relataram melhoria das concentrações de retinol do leite materno 6 a 9 meses pós-parto (STOLTZFUS et al, 1993; THANANGKUL et al, 1974; MUHILAL et al, 1985).

Dessa forma considera-se que o aumento da dose de vitamina A no pós-parto a 400.000 UI será uma forma eficaz de aumentar o *status* de vitamina da mãe e o conteúdo do leite materno. O esquema da suplementação deve acontecer em duas doses de 200.000 UI (60.000 μg RE) cada, a primeira dose imediatamente após o parto e a segunda dose, mais tarde, dentro do período infértil pós-parto. É importante que a segunda a dose deve ser administrada, pelo menos, 24 horas após a primeira dose, quando a primeira dose terá sido metabolizada e absorvida pelo fígado (DE BENOIST; MARTINES; GOODMAN, 2001).

Devido a escassez de trabalhos avaliando o efeito da suplementação de dupla megadose de vitamina A nas concentrações de retinol do leite materno, faz-se necessário

estudos a fim de esclarecer a efetividade desse esquema para que os programas possam garantir o esquema de suplementação mais eficaz para a prevenção e/ou combate da DVA.

3. MÉTODOS

3.1. DESENHO DO ESTUDO

Estudo tipo ensaio clínico, triplamente mascarado, controlado, randomizado, de base hospitalar, realizado a partir de dados da pesquisa intitulada: “Impacto da suplementação materna com dupla megadose de vitamina A no *post partum* sobre o estado nutricional de vitamina A e ferro no binômio mãe-filho e no crescimento e na morbidade das crianças menores de 6 meses em aleitamento materno”, viabilizado mediante convênio com o Ministério de Ciência e Tecnologia convênio n. 01.0265.00/2005-MCT, processo n.01200.006980/2005-MCT, Ministério da Saúde convênio n.4807/2005, processo n.25000.202.039/2005-11 e o Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – Imip.

3.2. POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO

Participaram do estudo puérperas domiciliadas no município do Recife e Região Metropolitana, admitidas na maternidade do Imip e na maternidade Municipal Prof. Bandeira Filho no período de agosto de 2007 a junho de 2009.

Ambas as maternidades estão localizadas na cidade do Recife, atendem a mulheres, predominantemente, de baixa renda, oriundas do Sistema Único de Saúde (SUS) e realizam cerca de 400 partos por mês.

O Imip é uma instituição filantrópica que atua na assistência médico-social, ensino, pesquisa e extensão comunitária e está credenciada como hospital de ensino pelos Ministérios da Educação e da Saúde e como Centro de Referência Nacional e Estadual na área Materno-Infantil para o Ministério da Saúde e o SUS - PE, respectivamente. Esta instituição é considerada Hospital Amigo da Criança pelo Ministério da Saúde sendo o pioneiro no Brasil e tem como característica o incentivo ao aleitamento materno além de atender uma maior demanda de gestantes de alto risco da cidade do Recife, cidades circunvizinhas e interior do Estado. A maternidade Prof. Bandeira Filho fica a 3,5 km do Imip, também é considerada pelo Ministério da Saúde Hospital Amigo da Criança, está vinculada a Secretaria de Saúde da Prefeitura do Recife e atende apenas gestantes de baixo risco obstétrico.

3.3 CÁLCULO AMOSTRAL:

O tamanho da amostra foi calculado pela fórmula $(u + v)^2 (dp_1^2 + dp_2^2) / (\mu_1 - \mu_2)$ (KIRKWOOD; STERNE, 2005)

Tomando-se como base os pressupostos de um erro $\alpha = 5\%$ (u), erro $\beta = 20\%$ (v), o desvio padrão da distribuição das concentrações de retinol sérico, nos dois grupos de tratamento (dp_1 e dp_2) igual a $0,52\mu\text{mol/L}$ (Ayah et al., 2007) e a diferença entre médias de retinol dos dois grupos $[(\mu_1 - \mu_0)^2]$ igual a $0,25\mu\text{mol/L}$, o tamanho amostral mínimo, calculado para cada grupo de tratamento, foi de 68 pares mãe-filho. No sentido de corrigir eventuais perdas, foi considerada uma amostra de 102 mulheres em cada grupo.

3.4. SELEÇÃO DA AMOSTRA:

As gestantes foram selecionadas no momento da internação para o parto. Após esclarecimento sobre os objetivos da pesquisa, aquelas que concordaram em participar, assinaram o termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A). Foram aferidas as medidas antropométricas, aplicado questionário com dados sócio demográfico e obstétricas além da coleta de amostras de sangue (APÊNDICE B). O questionário de frequência alimentar foi aplicado no final do ensaio clínico (SALAS et al., 2002).

3.4.1. Critérios de inclusão e exclusão

As participantes elegíveis foram puérperas na faixa etária entre 13 a 45 anos com gestação de feto único, a termo (idade gestacional ≥ 37 semanas) e residir na cidade do Recife ou Região Metropolitana. Foram excluídas puérperas com infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), diabetes mellitus, síndromes hipertensivas ou transtorno mental grave.

3.5. PROCEDIMENTOS E TÉCNICAS:

3.5.1. ALEATORIZAÇÃO DA AMOSTRA:

Após 8-10 dias do parto, as mães elegíveis foram randomizados por uma pesquisadora da equipe, de forma individual em dois grupos de suplementação. As mães recebiam uma numeração para identificação na pesquisa de forma sequenciada de acordo com a ordem de entrada na pesquisa. Portanto, primeira mãe selecionada na pesquisa recebeu o número 1, a segunda o número 2 e assim sucessivamente.

As candidatas já identificadas, de acordo com o número de ordem da pesquisa, foram randomizadas nos grupos de suplementação mediante uma tabela de números randômicos, elaborados pelo programa EPI INFO versão 6.04 (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), antes da consulta clínica do recém-nascido.

Os códigos de randomização foram realizados pela farmacêutica do Imip, não participante da pesquisa, e guardados num envelope lacrado no cofre do Imip. Foram mantidos sob sigilo durante toda a pesquisa e só foram reveladas após a conclusão da análise dos dados.

3.5.2. SUPLEMENTAÇÃO:

Antes da alta hospitalar, todas as puérperas receberam uma cápsula com 200.000 UI de vitamina A seguindo o Programa de Suplementação de Vitamina A do Brasil (BRASIL, 2005) e orientações sobre a importância do aleitamento materno exclusivo. Em seguida, foi entregue à puérpera um cartão de identificação da pesquisa, contendo o número de telefone para contato e o agendamento do retorno a puericultura.

Após 8-10 dias foi administrada a segunda dose. No grupo de suplementação de 400.000 UI as mães receberam a segunda cápsula de 200.000 UI de vitamina A e no grupo de 200.000 UI receberam a segunda cápsula com placebo.

O fluxograma da seleção, randomização e acompanhamento das participantes são apresentados no Diagrama 1.

Detalhamento dos grupos:

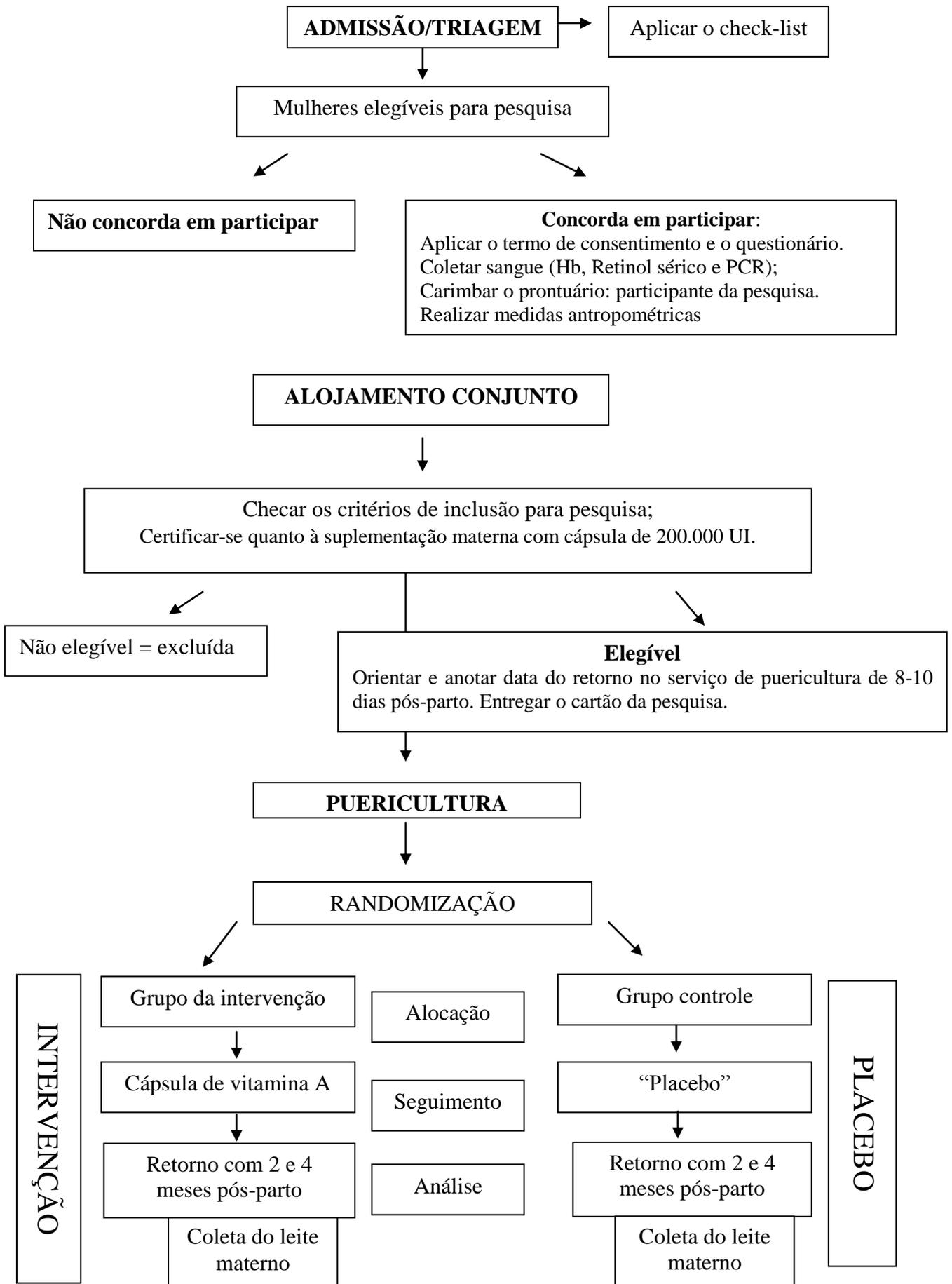
Grupo A – recebeu uma cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E, por via oral, logo após o parto e 10 dias pós-parto foi administrada a segunda cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E.

Grupo B – recebeu uma cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E, por via oral, logo após o parto e 10 dias pós-parto foi administrado à segunda cápsula “placebo” contendo (40mg de vitamina E diluída em óleo de soja).

As cápsulas de vitamina A e placebo administradas às mães na randomização foram fornecidas pela Relthy Laboratórios (Indaiatuba, SP, Brasil) apresentando mesmas características quanto ao aspecto (gelatinosa mole), formato, coloração (opaca para fotoproteção) e sabor. As cápsulas de vitamina A eram compostas de palmitato de retinol adicionado de 40 mg de vitamina E e as de placebo continham óleo de soja adicionado de 40 mg de vitamina E.

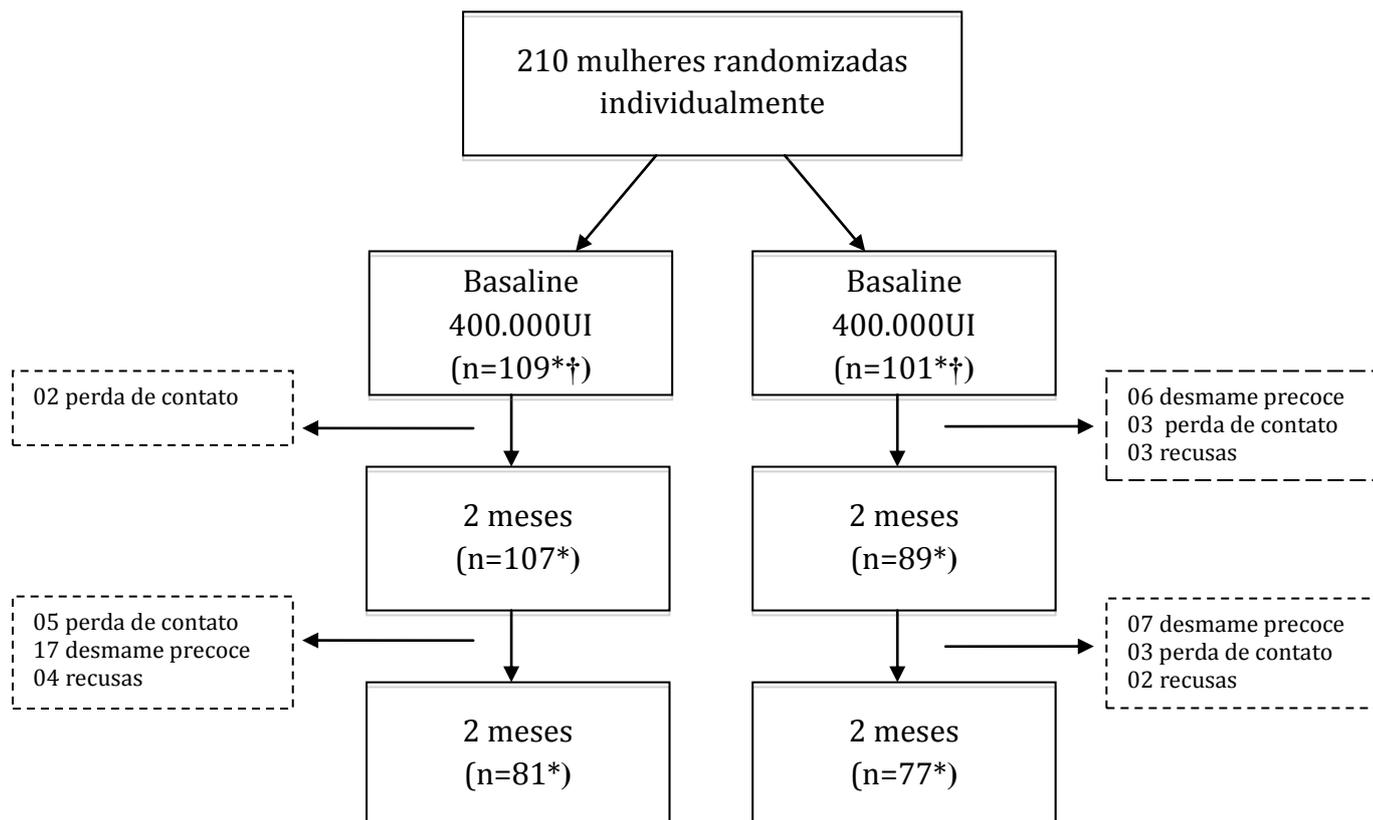
As puérperas selecionadas para a pesquisa eram contatadas por telefone para confirmar a data de retorno da criança ao serviço de puericultura e durante três dias consecutivos, após administração da segunda cápsula, foram monitoradas sobre possíveis efeitos adversos da suplementação com megadose de vitamina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

Diagrama 1. Captação e acompanhamento dos sujeitos



Das 210 mulheres recrutadas para participar da pesquisa, no decorrer do estudo houve uma perda de segmento de 24,7% (52/210) por saída espontânea ou perda de material biológico. Ao final, 168 mulheres concluíram o estudo, conforme se observa na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de distribuição da amostra das mulheres participantes da pesquisa. Recife, 2007/09.



* Retinol no leite materno

† Proteína C Reativa, hemoglobina, retinol sérico, avaliação antropométrica, consumo alimentar e as variáveis socioeconômica, demográficas e obstétricas.

3.5.3. COLETA DO LEITE MATERNO

O leite materno foi coletado nos tempos de 0, 2º e 4º meses pós parto, por auxiliar devidamente treinada, de uma única mama (direita) que não tenha servido para amamentação do bebê por no mínimo 3 horas. Assim que estiverem juntos mãe e bebê, a mãe ofereceu esta mama durante quinze minutos, após este período, o bebê foi retirado da mama direita sendo oferecida a mama esquerda, e o leite restante da mama direita foi ordenhado por bomba elétrica durante vinte minutos e acondicionado em recipientes de vidro previamente

esterilizado. Os tubos foram armazenados, protegidos da luz, sob refrigeração a -20°C permanecendo até posterior análise.

As mães foram acompanhadas durante 4 meses, com frequência de contatos bimestrais no ambulatório do Imip. Mesmo aquelas nutrizas que não estiveram em aleitamento exclusivo, não foram excluídas da investigação, e continuaram sendo acompanhadas e avaliadas, com base no desenho do estudo, ou seja, na “intenção de tratar”. No caso de qualquer doença da criança, as mães foram orientadas a contactar o ambulatório/auxiliar de pesquisa e, a natureza, duração e número de episódios da doença foram registrados no formulário.

3.5.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE RETINOL

O retinol no leite materno foi determinado, através do método modificado por Bezerra et al (2009) estabelecido por Giuliano e colaboradores (1992). O método consiste previamente em uma saponificação alcalina com hidróxido de potássio (KOH) a 50% v/v em volume dobrado ao da amostra, no intuito de hidrolisar os ésteres de retinil. Ao mesmo tempo foi adicionado álcool etílico 95% em igual volume ao da amostra, para desnaturação das proteínas. As amostras foram homogeneizadas durante 1 minuto em agitador de tubos, e submetidas ao banho-maria sob agitação a 45°C por 2 horas. Em seguida, foram adicionadas às alíquotas 3 mL de hexano como reagente extrativo, agitando-se durante 1 minuto para posterior centrifugação a 4000 rpm (rotações por minuto) por 10 minutos. A camada hexânica foi removida para outro tubo e no precipitado foi adicionados mais 3 mL de hexano, repetindo-se o processo extrativo por 3 vezes.

Uma alíquota de 3 mL da fase hexânica foi evaporada sob atmosfera de nitrogênio (em banho-maria a 37°C). Os extratos foram ressuspensos em 1 mL de metanol em grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e agitados durante 1 minuto, para ser analisado no CLAE.

A apresentação esquemática do método empregado na separação e determinação do retinol no leite encontra-se na Figura 2.

As concentrações de retinol no leite foram expressos em $\mu\text{mol/L}$. Valores menores e/ou iguais que $1,05 \mu\text{mol/L}$ são indicativos de baixa concentração de retinol (WHO, 1996).

3.5.5. PREPARO DO PADRÃO DE RETINOL

O padrão estoque de retinol foi preparado com 25 mg de retinol *todo trans* diluído em 100 mL de metanol absoluto e agitado por 60 segundos. Posteriormente foi realizadas a leitura em Espectrofotômetro Varian® UV/Vis a 325 nm, em cubeta de quartzo com capacidade para 2 mL. Utilizamos também p coeficiente de extinção específico (ϵ 1%, 1cm= 1780) em etanol absoluto (MILNE; BOTNEN, 1986).

Foi usada a fórmula a seguir, para a determinação da concentração real do padrão:

$$\text{Concentração do padrão} = A^\circ \div \epsilon\%$$

Onde: Concentração do padrão = em gramas de retinol por 100 mL da solução de leitura (g/%); A° = leitura da absorvância realizada no espectrofotômetro; $\epsilon\%$ = coeficiente de extinção específico do retinol $\epsilon\% = 1780$).

Após a confirmação real do padrão, o padrão trabalho foi diluído uma vez em metanol, levando sua concentração a aproximadamente 17,4 $\mu\text{mol/L}$ para aplicação no aparelho de CLAE.

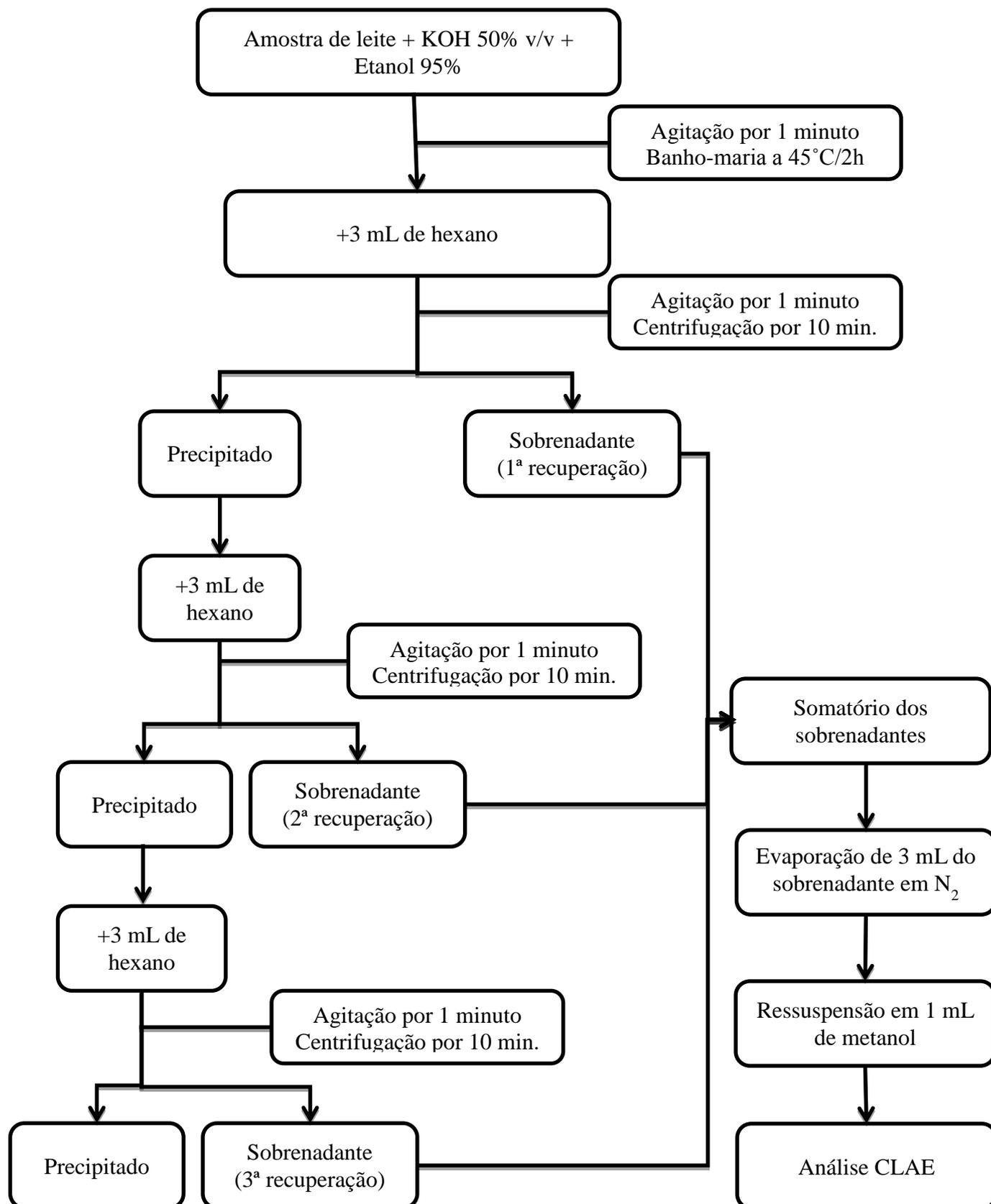
Curvas padrões foram feitas periodicamente usando como padrão referência o retinol *todo trans* em diferentes concentrações. O cálculo das concentrações de retinol foi baseado nestas curvas.

Inicialmente foi preparado um padrão estoque de retinol (872 $\mu\text{mol/L}$) e diluído na concentração de 17,4 $\mu\text{mol/L}$ (Solução diluída 1), foi realizada uma segunda diluição (Solução diluída 2) na concentração de 0,34 $\mu\text{mol/L}$. Para se chegar às concentrações dos pontos da curva padrão, foram realizadas diluições a partir da Solução diluída 2. Foram retirados 0,03ml, 1,5ml, 3ml e 6ml da padrão solução diluída 2 para se obter os seguintes pontos de concentração de padrões de retinol: 0,01; 0,05; 0,10; 0,20 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Em seguida os padrões foram diluídos em metanol e aplicados na CLAE.

3.5.6. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

As concentrações de retinol das amostras foram determinadas por CLAE em Cromatógrafo Ultimate 3000 Dionex®, acoplado a um Deterctor UV-VIS, Integrador Chromeleon® software system com uma coluna Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6mm x 25cm e *looping* de 20 μL , temperatura 26°C (0°-50°C), fase móvel metanol e comprimento de onde de 325mm.

Figura 2. Extração de retinol das amostras de leite.



3.5.7. DEFINIÇÃO E OPERACIONALIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS

Variável independente

Intervenção (400.000UI e 200.000UI de vitamina A)

Quadro 1 – Variável dependente

VARIÁVEL	REFERÊNCIA	TIPO	VALOR DE REFERÊNCIA
Retinol no leite materno	WHO, 1996	Variável numérica contínua	1,05µmol/L (30 µg/dL)

Quadro 2 – Variáveis de controle

VARIÁVEL	REFERÊNCIA	TIPO	VALOR DE REFERÊNCIA
Hemoglobina	WHO, 2001	Variável numérica contínua	< 12 g/dL
Proteína C Reativa (PCR)	SINGER <i>et al.</i> , 1957; NILSSON, 1968; SCHEIFFARTH, 1970	Variável numérica contínua	Inferior a 12 mg/L
Retinol Sérico	WHO, 1996	Variável numérica contínua	1,05µmol/L (30 µg/dL)
Idade	Idade em anos completos no momento da entrevista	Variável numérica discreta	Categorizada em anos completos
Escolaridade	Número completo de anos estudados conforme informação da mulher	Variável numérica discreta	Categorizada em anos de estudo completos
Índice de Massa Corpórea (IMC)	Estabelecido pela fórmula $\text{peso (kg)} / \text{altura(m)}^2$.	Variável numérica discreta	Categorizada em: baixo peso, peso adequado, sobrepeso/obesidade
Consumo alimentar	Questionário de frequência alimentar semiquantitativo	Variável categórica policotômica	Expressa em mediana e percentil.
Condições de saneamento	Presença de água ligada a rede pública com canalização interna, presença de esgoto ligado à rede pública e coleta regular de lixo.	Variável categórica dicotômica	Categorizada em: adequada ou inadequada

3.5.7.1. Padronização da coleta dos dados

Todos os pesquisadores (técnicos de enfermagem, técnicos de laboratórios, administrativos e acadêmicos de nutrição e enfermagem) receberam treinamento e orientação sobre os procedimentos e a rotina de desenvolvimento da pesquisa para assegurar a fidedignidade dos dados. A coleta propriamente dita dos dados foi feita por uma equipe de técnicos previamente treinados para a aferição das medidas antropométricas (peso e altura), seguidas às recomendações de LOHMAN *et al.*(1988) e aplicação do questionário, no qual foram anotadas informações sócio-demográficas, obstétricas e comportamentais. Todos os participantes da pesquisa receberam um manual de orientações da pesquisa (APÊNDICE C). Após treinamento, foi realizado um piloto com duração de 4 meses, contemplando entrevistas com as mulheres, para identificar possíveis falhas na captação e ajustes nos formulários. Todos os profissionais envolvidos na coleta de dados receberam crachá e camisa para melhor identificação dos mesmos pelas puérperas.

3.5.7.1.1. Medidas antropométricas

As técnicas adotadas para determinar as medidas antropométricas (peso e altura) seguiram as recomendações de LOHMAN *et al.* (1988) e de FRISANCHO (1990).

Cada puérpera foi medida duas vezes por dois examinadores e a cada cinco mães, uma teve seus dados replicados por um dos pesquisadores com a finalidade de garantir a fidedignidade das medidas intra e inter observadores. As medidas antropométricas foram realizadas como referido a seguir:

- **Peso**

A 1ª aferição foi realizada na admissão, por dois técnicos de enfermagem, com a mãe utilizando apenas a bata e descalça. O peso foi avaliado fazendo-se uso da balança de plataforma eletrônica, marca Toledo, modelo 6063866, (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Paulo, Brasil) carga máxima 150 kg e precisão de 0,05 kg. A técnica foi realizada da seguinte maneira: colocado a mulher no centro da plataforma da balança, em posição firme, com os braços ao longo do corpo. Verificado a leitura do peso com cautelosa atenção. O peso foi anotado em kg com 1 casa decimal. Ex: 75,2 kg.

- **Altura**

Foi aferida apenas na admissão por técnico de enfermagem. Realizada com a mulher descalça e sem adornos de cabeça e medida com a alça metálica acoplada a balança. A mulher deveria ficar de pé, com os calcanhares, ombros e cabeça contígua, sem dobrar os joelhos e a linha de mira (plano de Frankfurt) na horizontal. No momento de medir a altura, deslizou-se suavemente a esquadria, até tocar a cabeça da mulher. Retirado a mulher e anotado o número observado no visor da fita. O examinador colocou-se à frente da fita métrica, a fim de fazer a leitura em linha reta. O resultado foi anotado em metros com duas casas decimais. Ex: 1,63cm.

3.5.7.1.2. Diagnóstico do estado nutricional

As tomadas de peso e altura da mãe foram medidas na condição de gestante, no momento que precedeu ao parto, na sala de triagem. O indicador utilizado foi o Índice de Massa Corporal – IMC que é a relação entre peso (em quilogramas) e altura (em metros) ao quadrado ajustado para a idade gestacional (ATALAH *et al.*, 1997).

3.5.7.1.3. Consumo alimentar

A ingestão dos alimentos utilizados pela puérpera no período do estudo foi avaliada mediante utilização de questionário de frequência de alimentar semi-quantitativo para comparação dos grupos de suplementação validado por Salas et al (2003).

Quanto às dúvidas no relato das preparações/porções dos alimentos, utilizou-se um álbum de fotografias com o tamanho das porções dos alimentos, identificadas como pequena, média e grande.

Foi observada a frequência por dia/semana/mês e a quantidade ingerida através de uma estimativa de consumo cujas porções foram referidas mediante o uso de medidas caseiras. Para análise do consumo alimentar foi utilizado o Programa DIETSYS (National Cancer Institute, Bethesda, Estados Unidos; <http://appliedresearch.cancer.gov/DietSys/software.html>).

3.5.7.1.4. Condições de saneamento

As condições de saneamento foram consideradas adequadas quando o abastecimento de água ligada a rede pública apresentava canalização interna, presença de esgoto ligado à rede pública e coleta regular de lixo.

3.5.7.1.5. Medidas bioquímicas

3.5.7.1.5.1. Retinol Sérico

As amostras foram transportadas para o laboratório do CIMICRON /UFPB, mantida a cadeia de frio, para análise das concentrações do retinol sérico pela CLAE (HPLC, modelo 305, Gilson, França), segundo o método estabelecido por FURR *et al.*, (1992). Após o descongelamento, foram pipetados 100µL de soro de cada amostra e colocados em tubos cônicos de vidro, identificados, e adicionados 100µL de etanol absoluto (C₂H₅OH), para promover a precipitação das proteínas, e 200µL de hexano (C₆H₁₄), responsável pela extração do retinol. Em seguida, as amostras foram agitadas por 30 segundos, no agitador de tubos, em velocidade contínua, e centrifugados à velocidade de 3000 rpm, durante 5 minutos. Posteriormente, foram extraídos 100µL do sobrenadante, colocados em tubos de vidro pequeno e evaporados com nitrogênio, por aproximadamente 1 minuto. O resíduo da amostra foi redissolvido com 50µL de metanol e deste, retirados 20µL para leitura. O ponto de corte adotado para identificar as concentrações inadequadas de vitamina A foi a concentração sérica de retinol < 1,05µmol/L (< 30 µg/dL) (WHO,1996).

3.5.7.1.5.2. Hemoglobina

As concentrações de hemoglobina foram analisadas em contador eletrônico de células (Sysmex SF 3000 Automated hematology Analyzer, GMI, Inc. Ramsey, MN, USA). O ponto de corte adotado para identificação da anemia em puérperas foram valores de hemoglobina <12 g/dL (WHO, 2001).

3.5.7.1.5.3. Proteína C reativa (PCR)

A PCR foi analisada pelo laboratório do Imip e determinada pelo método de aglutinação de látex, qualitativo e semi-quantitativo e sua leitura seguiu a seguinte estrutura: o teste foi considerado positivo quando houve nítida aglutinação (≥ 6 mg/L), e negativo quando a suspensão permaneceu homogênea (SINGER *et al.*, 1957; NILSSON, 1968; SCHEIFFARTH, 1970). Considerando que o processo inflamatório é frequente durante o parto e o puerpério em suas primeiras horas, e que pode interferir nas concentrações séricas do retinol (KAAPA, 1993; MAKKONEM, 1993; THURHAN, 2003), utilizou-se como presença de atividade inflamatória PCR >12 mg/L (SMUTS, 2005).

3.7. PLANO DE ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram digitados em dupla entrada e verificados com o módulo “Validate” do pacote estatístico Epi-info, versão 6.04d (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), para checar a consistência e validação dos mesmos. As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Package for Social Science - SPSS for Windows, versão 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição, pelo teste de Kolmogorov Smirnov. As variáveis foram descritas na forma de média ou mediana e dos respectivos desvios padrões ou intervalo interquartilico, para distribuição normal e não normal, respectivamente. Para a comparação das médias entre os grupos foi utilizado o teste *t* de Student e *U* Mann-Whitney para dados não pareados. Na análise das proporções utilizou-se os testes Qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher.

No método para medidas repetidas, foi utilizado o modelo de regressão linear misto, que leva em consideração a possível correlação entre os valores da variável resposta que constituem medidas repetidas. Foi utilizado o nível de significância de 5% para rejeição de hipótese de nulidade.

3.8. ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética do Imip, sob o nº 720/2006, em 27 de janeiro de 2006 (ANEXO 1), de acordo com as normas para pesquisas em seres humanos e registrado no www.clinicaltrials.gov sob o número NCT00742937.

As puérperas que apresentaram deficiência de vitamina A ou qualquer outra morbidade, durante a pesquisa, foram encaminhadas à médica assistente da pesquisa para avaliação clínica e recebiam orientação quanto ao uso de medicações específicas para os sintomas apresentados. Não foram estabelecidas regras formais para a interrupção do ensaio clínico.

3.9. Viabilidade financeira

Pesquisa financiada pelo Ministério da Ciência e Tecnologia (convênio nº 01.0265.00/2005 MCT - processo nº 01200.006980/2005-83), Ministério da Saúde (convênio n.4807/2005, processo n.25000.202.039/2005-11) e o IMIP e a Maternidade Bandeira Filho disponibilizaram a infra-estrutura. As cápsulas de vitamina A e placebo foram fornecidos pela Relthy Laboratórios

5. RESULTADOS

Os resultados deste estudo estão apresentados sob a forma de artigo científico original, estruturado de acordo com as normas da revista NUTRITION (ANEXO 2), conforme regulamentação do Colegiado de Pós-Graduação de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Artigo Original

Efeito da dupla megadose de vitamin A nas concentrações de retinol no leite materno: um ensaio clinico randomizado.

Resumo

Objetivo: comparar as concentrações de retinol no leite materno (colostro, 2 e 4 meses) de mães suplementadas no pós-parto imediato com 400.00UI de vitamina A versus 200.000 UI.

Métodos: Ensaio clínico, randomizado, controlado e triplo cego, realizado em duas maternidades públicas da cidade do Recife, Nordeste do Brasil. Foram recrutadas 210 mães, alocadas em dois grupos de tratamento: 400.000 UI ou 200.000 UI de vitamina A e acompanhados durante 4 meses.

Resultados: Não houve diferença significantes entre as concentrações de retinol no leite materno entre grupos de tratamentos, embora tenha sido evidenciado uma progressiva redução das concentrações ao longo do estudo.

Conclusões: Não houve efeitos adicionais da suplementação materna com a dupla megadose sobre as concentrações de retinol no leite materno.

Ensaio clinico registrado no www.clinicaltrials.gov sob o nº NCT00742937.

Palavras-chave: Leite humano, suplementação. vitamina A

Abstract

Objective: To compare retinol concentrations in breast milk (colostrum , 2 and 4 months) from mothers supplemented during immediate postpartum with 400.00IU vitamin A versus 200.000 IU .

Methods : A randomized , controlled, triple-blind trial, conducted in two public maternities in Recife , northeastern Brazil . Two hundred and ten mothers were recruited and allocated into two treatment groups: 400,000 IU or 200,000 IU of Vitamin A and monitored for 4 months.

Results: There was no significant difference between retinol concentrations in breast milk between treatment groups, although a progressive reduction of concentrations throughout the study was observed.

Conclusions : There were no additional effects of maternal supplementation with double megadose of retinol concentrations in breast milk .

Keyword: supplementation, vitamin A and milk, human

Introdução

A vitamina A (VA) é um nutriente essencial, necessário em pequenas quantidades para o funcionamento normal do sistema visual, e manutenção das células com funções no crescimento, integridade epitelial, produção dos glóbulos vermelhos, imunidade e reprodução. Esse nutriente não pode ser sintetizado pelo corpo e, conseqüentemente, deve ser fornecido de forma exógena. Quando a ingestão dietética é cronicamente baixa, haverá deficiência de vitamina A (DVA)¹.

A ingestão inadequada de alimentos fontes de VA, durante períodos críticos de crescimento e desenvolvimento, como infância, gestação e lactação, aumentam consideravelmente o risco à saúde². O estado nutricional da VA é marginal na maioria dos recém-nascidos, e a prevenção da sua deficiência parece ser assegurada pelo aleitamento materno, tendo-se como pressuposto que as concentrações de retinol estejam adequadas nesse alimento³.

Assim, em condições ideais de aleitamento, o leite materno (LM) é considerado a mais importante fonte de VA para assegurar as reservas hepáticas do recém-nascido e o grande fator protetor da DVA até os dois anos de idade, fase de maior vulnerabilidade⁴. Entretanto, variações de componentes nutricionais do leite humano dependem do estágio de lactação, período de alimentação, nutrição materna, idade da mãe, idade gestacional da criança, e outros aspectos individuais e seletivos da lactante⁵.

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (2009), os níveis baixos de retinol sérico afetam 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de gestantes, mundialmente, correspondendo a 33,3% e 15,3%, respectivamente². No Brasil, nas últimas décadas, a DVA é considerada um problema de saúde pública, sobretudo na região Nordeste e em alguns locais da região Sudeste e Norte⁶.

Como estratégia para reverter essa situação, o Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, intitulado 'Vitamina A Mais', com finalidade de reduzir e controlar a DVA em crianças, através da administração de doses maciças de VA em crianças de 6 a 59 meses e em mulheres no pós-parto imediato, com o intuito de garantir o aporte adequado desse nutriente no LM⁷.

A megadose administrada no *post partum* imediato seria uma intervenção segura para a criança, no que diz respeito aos potenciais riscos de teratogenicidade, e teria a vantagem de prevenir contra os eventuais efeitos colaterais de um quadro de toxicidade, quando a VA é dada diretamente ao recém-nascido⁸.

Um estudo multicêntrico, envolvendo Índia, Peru e Gana, avaliou o efeito da

suplementação materna de VA (200.00UI) no pós-parto imediato nas concentrações no leite, encontraram que a dose usada melhorou as concentrações de retinol no LM em 2 meses pós-parto, mas o efeito não se manteve a 6 ou 9 meses⁹.

Ensaio clínico e modelos cinéticos têm indicado que suplementos com maior dosagem de VA têm elevado o *status* orgânico de VA de crianças no período neonatal^{3, 10, 11}. Tomando como base esses resultados, o International Vitamin A Consultative Group (IVACG) tem endossado a recomendação, aos programas de combate à DVA, da suplementação de 400.000 UI de VA no *post partum* imediato, fracionada em duas doses com pelo menos um intervalo de 24 horas entre elas¹².

Sendo assim, o objetivo deste artigo é verificar se a suplementação 400.000 UI de palmitato de retinol fracionada em duas doses via oral no pós-parto imediato promove um efeito adicional nas concentrações de retinol no leite humano quando comparado com a suplementação de 200.000 UI.

Materiais e Métodos

Desenho, período e local do estudo

Ensaio clínico randomizado, controlado, triplo-cego, de base hospitalar, envolvendo 211 mulheres entre 13 a 42 anos no período pós-parto, no período de agosto de 2007 a junho de 2009, recrutadas nas maternidades públicas Maternidade Bandeira Filho e Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira - Imip, ambas localizadas na cidade do Recife.

Elegibilidade dos participantes

Puérperas com gestação de feto único e a termo (idade gestacional ≥ 37 semanas). Foram excluídas puérperas com infecções pelo HIV, diabetes mellitus, síndromes hipertensivas e transtornos mentais graves.

Amostra

O tamanho da amostra foi calculado pela fórmula¹³: $N = (u + v)^2 (dp_1^2 + dp_2^2) / (\mu_1 - \mu_2)^2$ tomando-se como base os pressupostos de um erro $\alpha = 5\%$ (u), um erro $\beta = 20\%$ (v), o desvio padrão da distribuição das concentrações de retinol, nos dois grupos (dp_1 e dp_2) igual a $0,52 \mu\text{mol/L}$ ¹⁴ e a diferença entre médias de retinol intergrupos $(\mu_1 - \mu_0)^2$ igual a $0,25 \mu\text{mol/L}$, o tamanho amostral mínimo, para cada grupo foi de 68 mulheres. No sentido de corrigir eventuais perdas, foi aplicada uma correção de 1,5 totalizando 102 mulheres em cada grupo.

Seleção das participantes

As gestantes foram selecionadas no momento da internação para o parto. Após esclarecimento sobre os objetivos da pesquisa, aquelas que concordaram em participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram aferidas as medidas antropométricas, aplicado questionário com dados sócio-demográfico, frequência alimentar e obstétricas, além da coleta de amostras de sangue.

Randomização e acompanhamento

Cada mulher recebeu uma cápsula com 200.000 UI de VA por via oral, ainda na sala de parto, conforme o protocolo do Programa Nacional de Vitamina A do Ministério da Saúde do Brasil (Farmanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ- Brasil). Entre o 8º e 10º dia após o parto foi realizada a randomização individual em dois grupos de tratamento para receberem

respectivamente 200.000 UI ou placebo de VA, mediante o uso de uma tabela de números randômicos, gerada pelo programa EPI INFO versão 6.04d (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA).

Todas as mulheres foram monitoradas para avaliar a presença de eventuais efeitos colaterais relativos à toxicidade da VA nos três dias subsequentes à suplementação. Nenhuma referência que pudesse ser relacionada aos efeitos colaterais foi mencionada as mães para evitar que fossem sugestionadas sobre algumas das manifestações clínicas pesquisadas.

As cápsulas de VA e de placebo foram embaladas em recipientes separados e rotulados de forma codificada pelo farmacêutico do Imip, não integrante da pesquisa. Os códigos de randomização foram mantidos sob sigilo durante toda a pesquisa e só foram reveladas após a conclusão da análise dos dados.

O fluxograma da seleção, randomização e acompanhamento das participantes está apresentado na Figura 1.

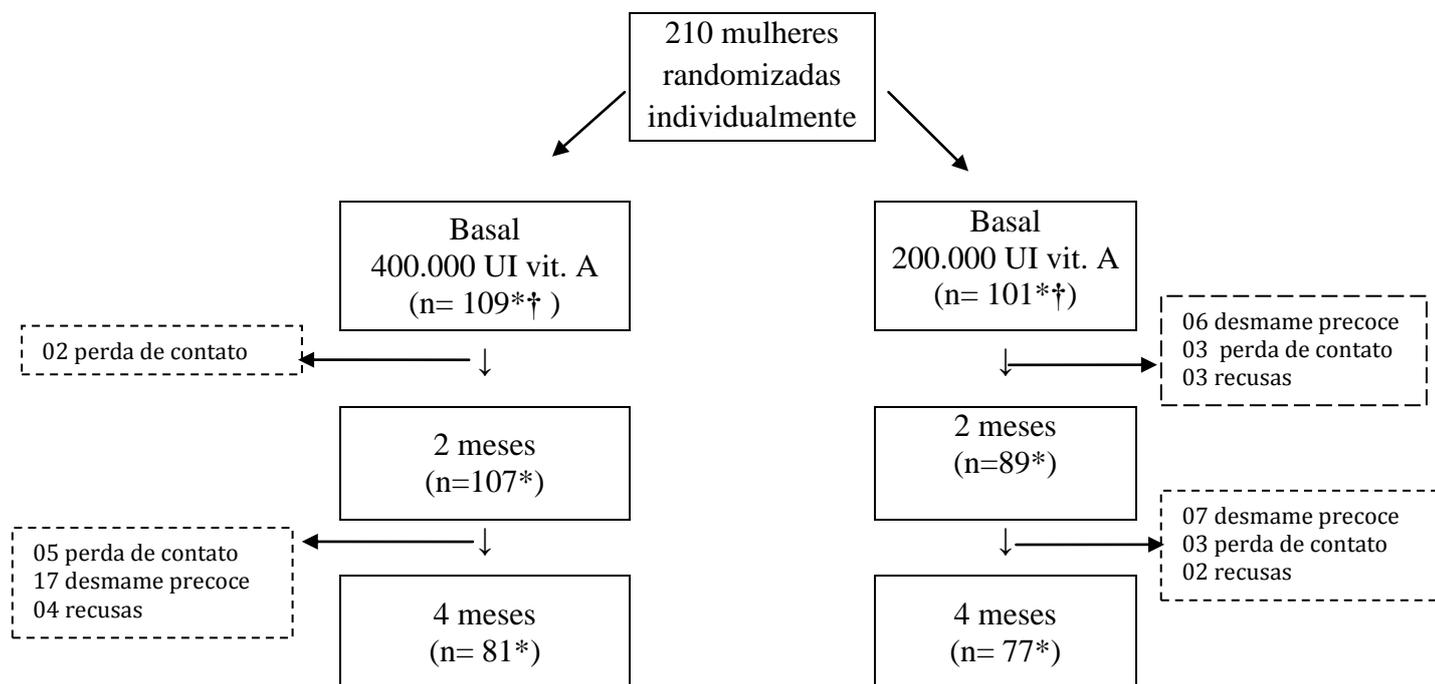
Detalhamento dos grupos:

Grupo 1 – recebeu uma cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E, por via oral, logo após o parto e 10 dias pós-parto foi administrada a segunda cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E.

Grupo 2 – recebeu uma cápsula de 200.000 UI (palmitato de retinol) + 40mg de vitamina E, por via oral, logo após o parto e 10 dias pós-parto foi administrada a segunda cápsula “placebo” contendo (40mg de vitamina E diluída em óleo de soja).

As cápsulas de VA e as do “placebo” foram preparadas de forma idêntica no tamanho, forma, cor (turva para fotoproteção) e sabor pelo Relthy Laboratórios (Indubatuba, SP-Brasil).

Figura 1. Fluxograma de distribuição da amostra das mulheres participantes da pesquisa. Recife, 2007/09.



*Retinol no leite materno, †Análise laboratorial (Proteína C Reativa, hemoglobina, retinol sérico), avaliação antropométrica, consumo alimentar e as variáveis socioeconômica, demográficas e obstétricas.

Métodos e técnicas de avaliação

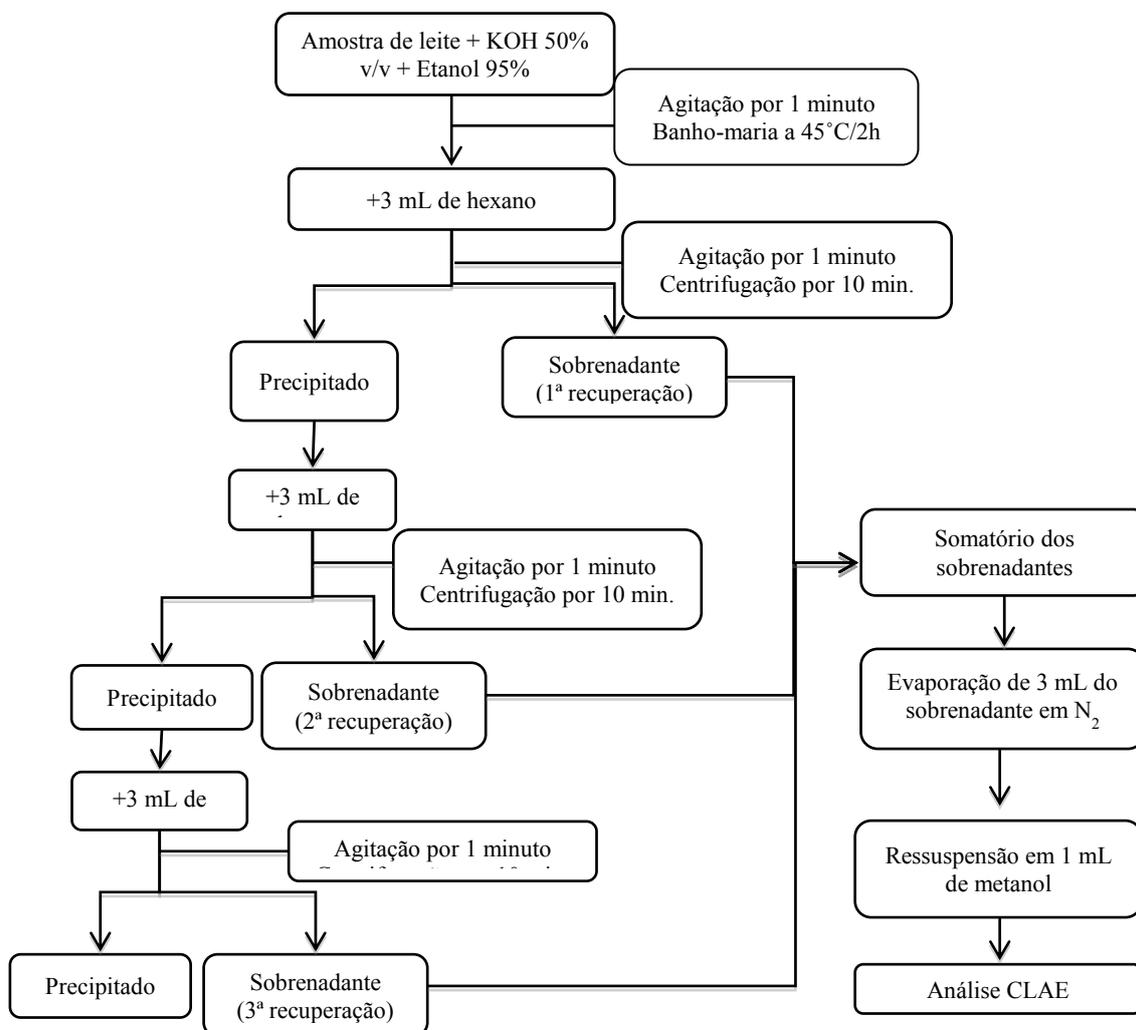
Retinol no LM

O LM foi coletado nos tempos 0 (colostro), 2º e 4º meses pós parto, por auxiliar devidamente treinada, de uma única mama (direita) que não tenha servido para amamentação do bebê por no mínimo 3 horas. Assim que estiverem juntos mãe e bebê, a mãe ofereceu esta mama durante quinze minutos, após este período, o bebê foi retirado da mama direita sendo oferecida a mama esquerda, e o leite restante da mama direita foi ordenhado por bomba elétrica durante vinte minutos e acondicionado em recipientes de vidro previamente esterilizado. Os tubos foram armazenados, protegidos da luz, sob refrigeração a -20°C permanecendo até posterior análise.

O retinol no LM foi determinado, obedecendo ao método estabelecido por Giuliano e colaboradores (1992)¹⁵ e adaptado por Bezerra et al.¹⁶ (Figura 2).

Curvas padrões foram feitas periodicamente usando como padrão referência o retinol todo *trans* em diferentes concentrações. O cálculo das concentrações de retinol foi baseado nestas curvas.

Figura 2. Extração de retinol das amostras de leite.



As concentrações de retinol das amostras de leite foram determinadas em Cromatógrafo Ultimate 3000 Dionex®, acoplado a um Deterctor UV-VIS, Integrador Chromeleon® software system com uma coluna Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6mm x 25cm e *looping* de 20 μ L, temperatura 26°C (0°-50°C), fase móvel metanol e comprimento de onda de 325nm.

As concentrações de retinol no leite foram expressos em μ mol/L. Valores menores e/ou iguais que 1,05 μ mol/L são indicativos de baixa concentração de retinol¹⁸.

As mães foram acompanhadas mensalmente durante os quatros primeiros meses pós parto no ambulatório do Imip. Nas consultas do 2°, 4° mês pós-parto foram realizadas as

coletas de LM no Banco de Leite Humano e Centro de Incentivo ao Aleitamento Materno do Imip. Mesmo aquelas nutrizes que não estiverem em aleitamento exclusivo, não foram excluídas da investigação, e continuaram sendo acompanhadas e avaliadas, com base no desenho do estudo, ou seja, na “intenção de tratar”.

Medidas bioquímicas: retinol sérico, proteína C reativa- PCR e hemoglobina

Para análise dos indicadores laboratoriais foram coletados 10 mL de sangue venoso das mães por venipuntura braquial, ainda na sala da triagem, antes da suplementação com VA. As concentrações de retinol sérico foram analisadas pela cromatografia líquida de alta resolução (HPLC, modelo 305, Gilson, França), segundo a técnica estabelecida por Furr et.¹⁷ e, o ponto de corte adotado para identificar concentrações inadequadas foi $<1,05 \mu\text{mol/L}$ ($<30 \mu\text{g/dL}$)¹⁸. A PCR foi determinada pelo método manual de aglutinação de partículas (quantitativo) utilizou-se como presença de atividade inflamatória concentrações de PCR $>12 \text{ mg/L}$ ¹⁹. As concentrações de retinol sérico não mostraram correlação com a atividade inflamatória, dessa forma foram descritas sem ajuste para o processo inflamatório. As concentrações de hemoglobina foram analisadas em contador eletrônico de células (Sysmex SF 3000 Automated Hematology Analyzer, GMI, Inc. Ramsey, MN, USA). O ponto de corte adotado para identificação da anemia foi hemoglobina $< 12 \text{ g/dL}$ ²⁰.

Diagnóstico do estado nutricional

As medidas antropométricas de peso e de estatura foram coletadas para cálculo e diagnóstico do estado nutricional por meio do Índice de Massa Corporal – IMC, ajustado para a idade gestacional, segundo proposição de Atalah (1997)²¹. Nas tomadas do peso e da estatura, utilizou-se uma balança digital eletrônica com alça metálica, marca Fillizzola, Personal Life, carga máxima 150 kg e precisão de 0,1 kg.

Dados socioeconômicos e demográficos

As variáveis socioeconômica, demográficas e obstétricas foram obtidas por entrevista e confirmadas pelo cartão de pré-natal e prontuário clínico. As informações sobre renda familiar *per capita* foram coletadas em reais (moeda local). A escolaridade maternal foi avaliada em anos de estudo e considerado o último ano concluído pela mãe. As condições de saneamento foram consideradas adequadas quando o abastecimento de água ligada a rede pública apresentava canalização interna, presença de esgoto ligado à rede pública e coleta regular de lixo.

Consumo alimentar

No Inquérito dietético foi utilizado o Questionário de Frequência Alimentar Semi-Quantitativo (QFA) previamente validado por Salas et al.²² analisado pelo programa DietSys versão 4.01 (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA).

Análise estatística

A construção do banco de dados foi realizada no programa Epi-Info versão 6.04 (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA) e para análise estatística foi utilizado o programa Statistical Package for Social Sciences - SPSS for Windows, versão 13.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição, pelo teste de Kolmogorov Smirnov. As variáveis foram descritas na forma de mediana e intervalo interquartil, apenas as concentrações de hemoglobina e retinol sérico que tiveram distribuição normal pelo referido teste foram descritas na forma de média e desvio padrão. Na comparação entre médias e ou medianas entre os grupos foram utilizados o teste “t” de Student e o teste *U* Mann-Whitney para dados não pareados.

Na análise intra grupos foi aplicado o modelo de regressão linear misto, que leva em consideração a possível correlação entre os valores da variável resposta que constituem medidas repetidas.

Na análise das comparações entre proporções utilizou-se os testes Qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher. Foi utilizado o nível de significância de 5% para rejeição de hipótese de nulidade.

Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de medicina Integral Prof. Fernando Figueira - Imip, sob o nº 720/2006 em 27 de janeiro de 2006 e o ensaio clínico foi registrado no www.clinicaltrials.gov sob o nº NCT00742937.

As puérperas que apresentaram deficiência de VA ou qualquer outra morbidade, durante a pesquisa, foram encaminhadas à médica assistente da pesquisa para avaliação clínica e recebiam orientação quanto ao uso de medicações específicas para as manifestações clínicas apresentadas. Não foram estabelecidas regras formais para a interrupção do ensaio clínico.

Viabilidade financeira

Pesquisa foi financiada parcialmente pelo Ministérios da Saúde [convênio n° 4807/2005, processo n° 25000.202.039/2005-11] e da Ciência e Tecnologia [convênio n° 01.0265.00/2005-MCT, processo n° 01200.006980/2005-83] do Brasil. O IMIP e a Maternidade Bandeira Filho disponibilizaram a infra-estrutura. As cápsulas de VA foram fornecidos pelo Ministério da Saúde do Brasil (Farmanguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e as do placebo pela Relthy Laboratórios (Indaiatuba, SP, Brasil).

Resultados

Das 210 participantes iniciais, apenas 158 puérperas completaram o protocolo do estudo até o final. As perdas ocorreram devido à mudança de endereço, falta de produção de leite e recusas. Estas perdas se distribuíram igualmente entre os grupos de suplementação ($p=0,87$; Tabela 1). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na análise de comparabilidade entre o grupo estudado e as perdas ao longo do seguimento (Tabela 2).

As participantes do estudo apresentaram uma mediana de idade de 24 anos (IQ 20-29), a maioria era multíparas (51,9% IC_{95%} 44,9-58,8) e 77,1% (IC_{95%} 70,2-83,0) tiveram o parto do tipo vaginal. O estado nutricional estava adequado em 42% (IC_{95%} 35,6-51,0) ao final da gestação e a mediana do consumo de vitamina A foi 1552,1 µg/dia (IQ 857,2-2857,7), sendo que 26,8% (IC_{95%} 18,3-36,7) das mulheres tiveram o consumo de vitamina A abaixo da EAR para lactação (900µg/dia) e 42,3% (IC_{95%} 32,2-52,7) abaixo da RDA para lactação (1300µg/dia).

A prevalência de DVA, utilizando como parâmetro o retinol sérico (<1,05 µmol/L), foi de 26,3% (IC_{95%} 17,6-30,4). Em relação às concentrações de retinol no LM no “baseline”, observou-se uma prevalência de 78,2% (IC_{95%} 71,8-83,4) de concentrações inadequadas de retinol no LM. A prevalência observada na estratificação por grupo foi similar entre aquelas nutrizas que receberam 400.000UI (80,2%, IC_{95%} 71,6-87,1) e 200.000UI (76,4%, IC_{95%} 67,7-83,6).

A comparação entre os grupos de tratamento mostrou homogeneidade no que diz respeito às características sociodemográficas, obstétricas, bioquímicas e nutricionais no baseline (Tabela3).

A tabela 4 descreve o efeito da suplementação com 400.000 vs 200.000 UI VA nas concentrações de retinol no LM das mães no pos-parto imediato, no 2º e 4º meses pos-

suplementação. Observou-se que a distribuição das concentrações de retinol do LM foi homogênea entre os grupos suplementados nos diferentes momentos de avaliação.

Na avaliação intra grupos observou-se, no “follow-up” (colostró, 2, 4 meses pós-parto), uma redução significativa nas concentrações de retinol no LM nos grupos de tratamento ($p = 0,001$). As concentrações de retinol no leite materno foi similar entre os grupos de suplementação (tabela 4).

No ajuste segundo o tipo de aleitamento, as concentrações de retinol foram similares entre os grupos de tratamento, aleitamento materno exclusivo (AME) ($p=0,787$) e aleitamento materno parcial (AMP) ($p=0,698$) no segundo mês, AME ($p=0,08$) e AMP ($p=0,837$) no quarto mês de seguimento.

A presença de atividade inflamatória foi observada em 54,1% (IC_{95%} 46,0-62,1) da população estudada. Em adição, ao longo do seguimento, houve uma redução nas concentrações de retinol no LM, que foram similares na presença ou ausência de atividade inflamatória com exceção do 4º mês, em que as concentrações foram menores nas nutrizes com atividade inflamatória ($p=0,03$).

Discussão

A elevada prevalência de DVA no LM encontrada nesse estudo está em consonância com os resultados encontrados na literatura que variam de 20% a 88,7%^{14, 16, 23, 24, 25, 26}. A divergência observada entre as prevalências de DVA analisadas pelo retinol do LM e pelo retinol sérico, poderia ser justificado pelo controle homeostático, uma vez que as concentrações séricas de retinol são homeostaticamente controlada e não diminui até que as reservas hepáticas estejam perigosamente baixas²⁷. O mesmo não pode ser afirmado em relação ao LM, Lourenço²⁸ em seu estudo, que avaliou o efeito da suplementação de 200.000UI no LM de puerperas saudáveis, encontrou que mulheres que mantiveram ou reduziram seus níveis de retinol no leite após megadose apresentaram retinol no soro inferior ao das lactantes, que em tese se beneficiaram com a intervenção. Sugerindo que em casos de depleção hepática de vitamina A a megadose pode ser utilizada preferencialmente pelo fígado ou por outros tecidos extra-hepáticos.

A grande proporção de múltiparas no estudo, poderia ser uma explicação para as baixas concentrações de retinol no LM. Meneses e Trugo²⁹ sugerem que a paridade pode influenciar os níveis de retinol no leite, baseado na hipótese que a lactação prévia poderia proporcionar uma alta mobilização das reservas de retinol, influenciada também pela adiposidade materna em múltiparas e alta transferência à glândula mamária. Ribeiro et al.²⁵ em sua investigação, não encontraram influência do estado nutricional antropométrico (que reflete a adiposidade materna em casos de sobrepeso/ obesidade) e a paridade na resposta à suplementação de vitamina A, provavelmente em virtude destes fatores exercerem influência no retinol do LM apenas em casos de consumo deficiente de vitamina A, quando o organismo utiliza os estoques corporais.

Ao analisar o consumo de vitamina A, é importante mencionar que houve uma alta prevalência de ingestão inadequada desse nutriente. Esse resultado é similar com os de Bezerra et al.¹⁶ e Ribeiro et al.²⁵ que encontraram uma prevalência de inadequação de ingestão de vitamina A, baseada na EAR, de 25,4% e 23%, respectivamente. Essa observação poderia justificar os resultados encontrados na população estudada, uma vez que a concentração de retinol no LM está diretamente relacionada com a ingestão materna de VA¹⁸. É importante referir que no Brasil, nas últimas décadas, evidências de hipovitaminose A foram documentadas, sobretudo em estados da região Nordeste, mas também, de modo esporádico, em alguns locais da região sudeste. Além disso, a região Nordeste e o Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais são considerados áreas endêmicas da deficiência da VA, que são caracterizadas pela seca e pelo alto índice de pobreza da população, dificultando o acesso aos

alimentos fontes de VA⁶.

As concentrações de retinol no colostro tanto no grupo de mães que receberam a dose de 400.000 UI de vitamina A (protocolo IVACG) como no de mães que receberam a dose de 200.000 UI de VA (protocolo OMS) encontraram-se abaixo dos valores mínimos para compor os estoques hepáticos de VA do recém-nascido. Merece enfatizar que as concentrações apresentaram uma progressiva redução no decorrer do tempo de acompanhamento/monitoramento (4 meses), como já bem documentado por Ross e Harvey³⁰ em que afirmam que o colostro é particularmente rico em retinol, mas durante o primeiro mês os níveis de VA declinam rapidamente para menos que a metade. Resultados similares foram descritos por Ayah et al. (2007), que também observaram uma redução na concentrações de retinol no LM no pós parto imediato após suplementação de 400.000UI em investigação realizado no Kenia¹⁴.

A ausência de efeitos adicionais no incremento das concentrações de retinol sérico, quando administrado uma dose de 400.000 UI (protocolo IVACG) em relação a 200.000 UI de VA (protocolo OMS) ratifica os resultados de outros estudos que usaram métodos similares^{16, 31, 32}. Uma tentativa de explicar essa ausência de efeitos impactantes de uma dose maior de VA poderia está relacionada com as duas vias de transporte de VA para o leite. A primeira através da proteína de transporte de retinol (RBP), que sob condições normais é responsável pelo transporte 90% do retinol e está relacionada aos níveis plasmáticos de retinol e ao controle homeostático do fígado, e a segunda através dos quilomicrons (QM), responsáveis pelo transporte de 60% do retinol, no entanto, suas concentrações aumentam proporcionalmente com o aumento da ingestão de VA³³.

A presença de atividade inflamatória em 54,1% (IC_{95%} 46,0-62,1) da população estudada pode está relacionada com a ausência de efeitos adicionais encontrada. Esse achado embasa nossa hipótese de que o estado inflamatório interfere no transporte e metabolismo da VA, visto que de 80 a 90% da VA é transferida para o LM através da RBP³³, que é uma proteína negativa de fase aguda, pois sua concentração diminui em períodos de resposta inflamatória³⁴. Em adição, o parto desencadeia uma resposta de fase aguda com pico de PCR que pode ter duração de uma semana, e dessa forma, aumentando as chances de desenvolvimento de carência subclínica, mesmo coincidindo com o período de administração das cápsulas de VA (pós-parto imediato)³⁵.

Se uma resposta de fase aguda pode prejudicar o transporte e metabolismo da VA, então efeitos maiores poderiam ser esperados se a suplementação ocorresse no período de redução da resposta de fase aguda, ou seja, no final da sexta semana infértil pós-parto, quando

então seria o período mais propício para a suplementação com VA¹⁴.

A segunda hipótese estaria relacionada com o processo de transporte via quilomicrons. Estima-se que a contribuição do recém-absorvido complexo quilomicron-VA para o conteúdo de VA no leite materno, aumenta proporcionalmente a medida que aumenta o consumo de VA ou pela suplementação de VA³⁶. No entanto essa atividade do transporte de VA pelo QM é limitada pela saturação das Lipoproteínas Lipase (LPL)³⁷.

Ross et al. (2004) mostraram que a LPL pode ser o ponto chave para a transferência da VA dos quilomícrons para o tecido mamário. Uma possível explicação para esse fato seria que, uma vez saturada a atividade da LPL após uma megadose, uma dosagem adicional de VA não é incorporada prontamente ao leite materno³⁶.

Com relação a reserva hepática, não foi possível avaliar a resposta desse parâmetro na população estudada o que poderia ser presumido como uma limitação do estudo, ficando limitado ao panorama das concentrações de retinol plasmático e no LM.

Mais estudos são necessários a fim de elucidar os fatores que podem ter influenciado no sucesso de intervenções, a exemplo, da administração das megadoses após pelos menos uma semana pós-parto, período no qual a reposta inflamatória começaria a regredir e, por conseguinte, um intervalo maior entre as duas doses (200.000UI+200.000UI) para se garantir uma maior atividade da LPL.

Em conclusão, nenhum efeito adicional da suplementação de 400.000 UI de vitamin A (protocolo IVACG) em comparação com a dose de 200.000 UI de VA (protocolo OMS). Dessa forma reforçamos que a dose de 200.000UI preconizada pela OMS, assim como pelo Ministério da Saúde do Brasil parece ser a melhor estratégia para combater e prevenir a DVA, visto que vários estudos demonstraram benefícios nas concentrações séricas de retinol no binomio mãe-filho.

Tabela 1. Distribuição das perdas do estudo segundo o grupo de suplementação. Recife/PE, 2007/09.

Grupo de suplementação	Concluíram estudos		Perdas		Total		p*
	n	%	n	%	n	%	
400.000 UI vitamina A	81	74,3	28	25,7	109	100,0	0,87
200.000 UI vitamina A	77	76,2	24	23,8	101	100,0	

*Teste do X² de Pearson

Tabela 2. Comparação de variáveis de controle, entre as mulheres que concluíram o estudo e as perdas. Recife-PE, 2007/09.

Características	Grupos						
	n	Estudo		n	Perdas		p-valor*
		Mediana	IQ		Mediana	IQ [§]	
Anos de estudo	158	10	8-11	51	10	7-11	0,154
Idade (anos)	158	24	20-29	52	23	19-27	0,281
Número de gestações	158	2	1-2	52	2	1-2	0,754
Renda per capita (R\$)	156	126,6	95,0-174,4	50	145,0	103,7-190,0	0,304
Consumo de vitamina A (µg de retinol)	81	1552,1	877,1-2860,9	16	1609,54	830,5-2854,4	0,961
Proteína C-Reativa (mg/L)	117	24,0	6,0-96,0	40	24,0	6,0-48,0	0,891
	n	Média	DP ⁺	n	Média	DP	
Hemoglobina basal(g/dL)	143	11,6	1,6	46	11,8	1,5	0,489 ^a
Retinol sérico (µmol/L)	135	1,4	0,7	48	1,2	0,7	0,198 ^a
	n	%	IC ⁺⁺	n	%	IC	
EN^{##} basal							
Baixo peso	23	18,7	12,5 – 27,1	13	27,6	16,0-42,8	0,547 ^b
Adequado	56	45,9	36,9-55,1	17	36,2	23,0-51,2	
Sobrepeso	25	20,6	13,9-28,9	9	19,1	9,6-33,7	
Obesa	18	14,8	9,2-22,5	8	17,1	8,1-31,3	
Maternidade							
IMIP	93	64,6	56,1-72,2	25	62,5	45,8-76,8	0,954 ^b
Bandeira Filho	51	35,4	27,7-43,8	15	37,5	23,1-54,4	
Saneamento							
Adequado [#]	111	78,2	70,3-84,4	27	73,0	55,6-85,6	0,652 ^b
Não adequado	31	21,8	15,5-29,6	10	27,0	14,3-44,4	
Tipo de Parto							
Vaginal	113	78,5	70,8-84,8	29	72,5	56,1-85,3	0,559 ^b
Cesário	31	21,5	15,1-29,1	11	27,5	14,6-43,8	
Sexo RN							
Masculino	67	46,5	38,1-55,0	20	50,0	33,8-66,1	0,833 ^b
Feminino	77	53,5	44,9-61,8	20	50,0	33,8-66,1	

^{##}Estado Nutricional=Índice de Massa Corporal; [§]Interval Interquartilico; ⁺Desvio padrão; ⁺⁺Intervalo de confiança; ^{*} Teste U de Mann-Whitney; ^a Teste “t” de Student para amostras não pareadas; ^b teste de Qui-quadrado de Pearson; [#] Adequado quando houve presença de água com canalização interna e presença de esgoto ligados à rede pública e coleta regular de lixo.

Tabela 3. Características maternas no baseline, Recife/PE, 2007-2009

Variáveis	Grupo						p-valor*
	400.000UI			200.000UI			
	n	Mediana	IQ [§]	n	Mediana	IQ [§]	
Anos de estudo	109	10,0	7,0- 11,0	100	10,0	8,0-11,0	0,654
Idade (anos)	109	23,0	21,0-29,0	101	24,0	20,0-29,0	0,748
Número de gestações	109	2,0	1,0-2,0	101	2,0	1,0-2,0	0,873
Renda per capita (R\$)	106	126,9	98,7-168,2	100	138,3	95,0-190,0	0,689
Consumo de vitamina A (µg de retinol)	51	1552,1	821,0-3314,6	46	1581,1	886,5-2364,0	0,686
PCR (mg/L)	79	24,0	6,0-96,0	78	24,0	6,0-48,0	0,329
	n	Média	DP⁺	n	Média	DP	
Hemoglobina (g/dL)	96	11,6	1,8	93	11,5	1,4	0,388 ^a
Retinol Sérico (µmol/L)	97	1,4	0,6	86	1,5	0,7	0,786 ^a
EN^{##} basal	n	%	IC⁺⁺	n	%	IC	
Baixo peso	16	18,2	10,7-27,8	20	24,7	15,7-35,5	0,372 ^b
Adequado	41	46,6	35,8-57,5	32	39,5	28,8-50,9	
Sobrepeso	15	17,0	9,8-26,5	19	23,5	14,7-34,1	
Obesa	16	18,2	10,7-27,8	10	12,3	6,0-21,5	
Saneamento							
Adequado [#]	62	65,3	54,8-74,7	56	62,9	52,0-72,9	0,859 ^b
Não adequado	33	34,7	25,2-45,1	33	37,1	27,0-47,9	
Tipo de Parto							
Vaginal	70	75,3	65,2-83,6	68	79,1	68,9-87,0	0,669 ^b
Cesário	23	24,7	16,3-34,7	18	20,9	12,9-31,0	
Sexo do RN							
Masculino	68	71,6	61,4-80,3	74	83,1	73,7-90,2	0,090 ^b
Feminino	27	28,4	19,6-38,5	15	16,9	9,7-26,2	

^{##}Estado Nutricional; [§]Interval Interquartilico; ⁺Desvio padrão; ⁺⁺Intervalo de confiança; ^{*} Teste *U* de Mann-Whitney; ^aTeste t de student para amostras não pareadas; ^b teste de Qui-quadrado de Pearson; [#] Adequado quando houve presença de água com canalização interna e presença de esgoto ligados à rede pública e coleta regular de lixo

Tabela 4. Comparação das concentrações de vitamina A no leite materno ($\mu\text{mol/L}$) das mães no pós parto imediato, 2 e 4 meses, entre os grupos de suplementação, Recife/PE, 2007-2009.

Concentração	Grupos de Suplementação com vitamina A						p^a
	400.000UI			200.000UI			
	n	Mediana	IQ	n	Mediana	IQ	
Colostro	109	0,57	0,28-1,02	101	0,52	0,27- 0,95	0,715
2 meses	97	0,37	0,25- 0,65	89	0,40	0,22- 0,74	0,790
4 meses	81	0,29	0,18-0,49	75	0,22	0,12- 0,57	0,279
p^b		< 0,001			< 0,001		

^a Teste *U* de Mann-Whitney; ^b Modelo de regressão linear misto

REFERENCIAS

1. Haskell MJ, Brown, KH. Maternal vitamin A nutriture and the vitamin A content of human milk. *J Mammary Gland Biol.* 1999; 4: 243-27.
2. World Health Organization. Reducción de la mortalidad materna. Declaración conjunta OMS/FNUAP/UNICEF/Banco Mundial. Genebra: OMS, 1999.
3. Miller, M. et al. Why do children become vitamin A deficient? *J. Nutr* 2002; 132: 2867S-80S.
4. Martins MC, Oliveira YP, Coitinho DC, Santos LMP. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. *Rev. Nutr.* 2007; 20: 5-18.
5. Nascimento MBR, Issler H. Breastfeeding: making the difference in development, health nutrition of term and preterm newborns. *Rev. Hosp. Clín.* 2003; 58: 49-60.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual de condutas gerais do Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013.
7. Brasil. Portaria no 729, de 13 de maio de 2005. Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
8. Kirkwood BR, Sterne, AC. *Essential medical statistics*. 2nd Ed. Blackwell Science. Oxford, 2005.
9. Bahl R, Bhandari N, Wahed MA, Kumar GT, Bhan MK. WHO/CHD Immunization-Linked Vitamin A Group Vitamin A. Supplementation of Women Postpartum and of Their Infants at Immunization Alters Breast Milk Retinol and Infant Vitamin A Status. *J Nutr* 2002; 132: 3243–48.

10. Allen LH, Haskel M. Estimating the potential for vitamin A toxicity in women and young children. *J Nutr* 2002; 132:2907S-33S.
11. Ross DA. Recommendations for supplementation. *J Nutr* 2002; 132: 2907S-19S.
12. Benoist B, Martines J, Goodman, T. Food and Nutrition Bulletin: Special issue on vitamin A supplementation and the control of vitamin A deficiency. The United Nations University Press, New York, v.22, n.2, 2001.
13. Kirkwood B, Sterne J. (2003) Essential medical statistics. 2nd ed., Oxford: Blackwell Science.
14. Ayah RA, Mwaniki DL, Magnussen P, et al. The effects of maternal and infant vitamin A supplementation on vitamin A status: a randomised trial in Kenya, *Br J Nutr* 2007; 98: 422–30.
15. Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield, L.M. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.* 1992; 213: 391-99.
16. Bezerra DS, Araújo KF, Azevêdo GMM, Dimenstein R. A Randomized Trial Evaluating the Effect of 2 Regimens of Maternal Vitamin A Supplementation on Breast Milk Retinol Levels, *J Hum Lact* 2010; 26:2.
17. Furr HC, Clifford AJ, Jones AD. Analysis of apocarotenoids and retinoids by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Methods Enzymol* 1992; 213: 281-90.
18. World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva, World Health Organization, 1996.
19. Scheiffarth F, Perez-Miranda M, Gotz H. Demonstration of the C-reactive protein in normal serums. *Blut.* 1970; 20: 296-305.
20. World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control: a guide for programme managers, W.H. Organization, Editor. World Health Organization: Geneva, 2001.
21. Atalah EC, Castro C, Aldea RA. (1997) Proposal of a new standard for the nutritional assessment of pregnant women. *Rev Med Chil* 125, Suppl.12, 1429-36.
22. Salas ZJ, Faz-Cepeda F, Castañón LNB, Martínez PCC, Obregón MCM, Torres MSC, García MLL. Consumo de folatos de mujeres em edad fértil de Apocada, N.L. México. *Rev Sal Públ Nutr.* 2003; 4: v.4, 1-7.

23. Rice AL, Stoltzfus RJ, De Francisco A, Chakraborty J, Kjolhede CL, Wahed MA. Maternal vitamin A or β -carotene supplementation in lactating Bangladeshi women benefits mothers and infants but does not prevent subclinical deficiency. *J Nutr* 1999; 129: 356–65.
24. Ettyang G, Oloo A, Lichtenbelt WM, Saris W. Consumption of vitamin A by breastfeeding children in rural Kenya. *Food and Nutr Bull* 2004; 25(3): 1312-19.
25. Ribeiro KDS, Araújo KF, Dimenstein R. Efeito da suplementação com vitamina A sobre a concentração de retinol no colostro de mulheres atendidas em uma maternidade pública. *Rev. Ass. Med. Bras.* 2009; 55 (4): 452-57.
26. Souza G, Saunders C, Dolinsky M, Queiroz J, Campos A, Ramalho A. Vitamin A concentration in mature human milk. *J Pediatr* 2012; 88(6): 496-502.
27. Underwood BA. Vitamin A in animal and human nutrition. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS, eds. *The retinoids*. Vol 1. Orlando, FL:Academic Press 1984;282–392.
28. Lourenço RMS. Influência da suplementação de retinol palmitato sobre os níveis de vitamina A do leite de puérperas saudáveis. Natal: Departamento de Bioquímica do Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2005.
29. Meneses F, Trugo N. Retinol, β -caroteno, and lutein zeaxanthin in the milk of brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. *Nutr Res* 2005;25:443-51.
30. Ross JS, Harvey PWJ. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull WHO* 2003; 81(2): 80-86.
31. Idindili B, Masanja H, Urassa H, et al. Randomized controlled safety and efficacy trial of 2 vitamin A supplementation schedules in Tanzanian infants. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1312–9
32. Darboe MK, Thurnham DI, Morgan G *et al*. Effectiveness of an early supplementation scheme of high-dose vitamin A versus standard WHO protocol in Gambian mothers and infants: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 2088–96.
33. Vahlquist A, Nilsson S. Mechanisms for vitamin A transfer from blood to milk in rhesus monkeys. *J Nutr.* 1979;109:1456-1463.
34. Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J Nutr.* 2004;134:290S–3S.
35. Friis H, Gomo E, Mashange W, et al. The acute phase response to parturition: a cross-sectional study in Zimbabwe. *Afr J Reprod Health.* 2009; 3(2):61-8.

36. Ross AC, Pasatiempo AMG, Green MH. Chylomicron margination, lipolysis, and vitamin A uptake in the lactating rat mammary gland: implications for milk retinoid content. *Exp Biol Med.* 2004;229:46-55.
37. Valentine AR, Tanumihardjo SA. One-time vitamin A supplementation of lactating sows enhances hepatic retinol in their offspring independent of dose size. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:427-433.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A DVA traz sérias repercussões a saúde de crianças menores de cinco anos, período de intenso crescimento e desenvolvimento. A elevada prevalência de DVA, utilizando como parâmetro as concentrações de retinol no leite materno, confirma a realidade de que as crianças encontram-se vulneráveis a desenvolver DVA, uma vez que o leite materno é a única fonte de VA para crianças em aleitamento materno exclusivo e principal fonte naquelas com aleitamento materno parcial. Torna-se evidente a necessidade de um maior monitoramento e intensificação da campanha de controle/ prevenção de DVA.

A dupla megadose (protocolo IVAGC) de VA não apresentou efeito adicional nas concentrações de retinol no leite materno, reforçando que o protocolo OMS parece ser a melhor estratégia do ponto de vista econômico e metodológico para o controle/prevenção de DVA. Mais estudos são necessários a fim de elucidar algumas limitações metodológicas, a exemplo do período da administração e intervalo entre as duas doses.

REFERÊNCIAS

ALLEN, L.H.; HASKEL, M. Estimating the potential for vitamin A toxicity in women and young children. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.132, p.2907S-2933S, 2002.

AZAÏS-BRAESCO, V.; GÉRARD, P. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. **American Journal Clinical Nutrition**, v.71, s.1, p.1325S-33S, 2000.

AZEVEDO, P.A.; ROND, P.H.; REHDER VAZ-DE-LIMA, L.; FREITAS, O.C.; UEDA, M.; GONÇALVES-CARVALHO, C. et al. The impact of vitamin A supplementation on the immune system of vitamin A deficient children. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.80, n.3, p.188-196, 2010.

BAHL, R.; BHANDARI, N.; WAHED, M.A.; KUMAR, G.T.; BHAN, M.K.; WHO/CHD IMMUNIZATION-LINKED VITAMIN A GROUP VITAMIN A. Supplementation of Women Postpartum and of Their Infants at Immunization Alters Breast Milk Retinol and Infant Vitamin A Status. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3243-3248, 2002.

BEZERRA, D.S.; DE ARAÚJO, K.F.; AZEVÊDO, G.M.M.; DIMENSTEIN, R. Suplementação materna com retinil palmitato no pós-parto imediato: consumo potencial por lactentes. **Revista Saúde Pública**, v.43, n.4, p.572-579, 2009.

BRASIL. Portaria no 729, de 13 de maio de 2005. **Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BASU, S.; SENGUPTA, B.; PALADHI, P.K.R. Single megadose vitamin A supplementation of Indian mothers and morbidity in breastfed young infants. **Postgraduate Medical Journal**, v.79, p.397-402, 2003.

BRASIL. Secretaria de Atenção a Saúde. **Vitamina A mais: programa nacional de suplementação de vitamina A - condutas gerais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BUTTE, N.F.; LOPEZ-ALARCON, M.G.; GARZA, C. **Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Expert Consultation**

on the optimal duration of exclusive breastfeeding, Geneva: WHO, 2002.

DANCHECK, B.; NUSSENBLAT, V.; RICKS, M.O.; KUMWENDA, N.; NEVILLE, M.C.; MONCRIEF, D.T.; TAHA, T.E.; SEMBA, R.D. Breast milk retinol concentrations are not associated with systemic inflammation among breast-feeding women in Malawi. **Journal of Nutrition**. v.135, p.223–226, 2005.

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

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, S.J. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier; 1998.

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

FURR, H.C.; CLIFFORD, A.J.; JONES, A.D. Analysis of apocarotenoids and retinoids by capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Methods in enzymology**. v.213, p.281-90, 1992.

GIULIANO, A.R.; NEILSON, E.M.; KELLY, B.E.; CANFIELD, L.M. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. **Methods Enzymol.**, v.213, p.391-399, 1992.

HASKELL, M.J.; BROWN, K.H. Maternal vitamin A nutrition and the vitamin A content of human milk. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, New York, v.4, p.243-257, 1999.

KIRKWOOD, B.R.; STERNE, A.C. **Essential medical statistics**. 2nd Ed. Blackwell Science. Oxford, 2005.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 13º ed., Rocca, São Paulo, p.1156, 2013.

MARTINS, M.C.; OLIVEIRA, Y.P.; COITINHO, D.C.; SANTOS, L.M.P. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.20, p5-18, 2007.

MCLAREN, D.S.; FRIGG, M. **Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD)**. Washington (DC): Organizacion Panamericana de la Salud, 1999.

MELLO NETO, J.; RONDO, P.H.C.; OSHIIWAC, M.; MORGANO, M.A.; ZACARI, C.Z.; DOMINGUES, S. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clinical Nutrition**, v. 28, p. 178–181, 2009.

MILLER, M. et al. Why do children become vitamin A deficient? **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.132, p.2867S-2880S, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher**, 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

MUHILAL, P.D.; SAIDIN, M.; MURDIANA, A.; WIRAMIHARDJA, K.K.; KARYADI, D. Dampak pemberian vitamin A dosis tinggi pada ibu menyusui terhadap status vitamin A anak. **Gizi Makanan**, v.8, p.5–19, 1985.

NASCIMENTO, M.B.R.; ISSLER, H. Breastfeeding: making the difference in development, health nutrition of term and preterm newborns. **Revista Hospital das Clinicas Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.58, n.1, p.49-60, 2003.

RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Danvers, v.12, n.2, p.117-122, 2002.

RIBEIRO, K.D.S.; ARAÚJO, K.F.; DIMENSTEIN, R. Efeito da suplementação com vitamina A sobre a concentração de retinol no colostro de mulheres atendidas em uma maternidade pública. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.55, n.4, p.452-457, 2009.

RICE, A.L.; STOLTZFUS, R.J.; DE FRANCISCO, A.; CHAKRABORTY, J.; KJOLHEDE, C.L.; WAHED, M.A. Maternal vitamin A or β -carotene supplementation in lactating Bangladeshi women benefits mothers and infants but does not prevent subclinical deficiency. **Journal of Nutrition**, v. 129, p.356–365, 1999.

ROSS, DA. Recommendations for supplementation. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.132, p.2907S-19S, 2002.

ROY, S.K.; ISLAM, A.; MOLLA, A.; AKRAMUZZAMAN, S.M.; JAHAN, F.; FUCHS, G. Impact of a single megadose of vitamin A at delivery on breastmilk of mothers and morbidity of their infants. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.51, p.302-307, 1997.

SOMMER, A. **Vitamin A deficiency and its consequences: a field guide to detection and control**. Geneva, World Health Organization, 3^a ed, 1995.

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

SOUZA, G.; SAUNDERS, C.; DOLINSKY, M.; QUEIROZ, J.; CAMPOS, A.; RAMALHO, A. Vitamin A concentration in mature human milk. **Journal of Pediatrics**, v.88, supl. 6, p.496-502, 2012.

STOLTZFUS, R.J.; HAKIMI, M.; MILLER, K.W., et al. High dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. **Journal of Nutrition**, v.123, p.666-675, 1993.

STOLTZFUS, R.J.; UNDERWOOD, B.A. Breast milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. **Bulletin of World Health Organization**, v.73, p.703-711, 1995.

SURLES, R.L.; LI, J.; TANUMIHARDJO, S.A. The modified-relative-dose-response value in serum and milk are positively correlated over time in lactating sows with adequate vitamin A status. **Journal of Nutrition**, v. 136, p.939–945, 2006.

TANUMIHARDJO, S.A.; PENNISTON, K.L. Simplified methodology to determine breast milk retinol concentrations. **Journal of Lipid Research**, v.43, p.350–355, 2002.

TANUMIHARDJO, S.A. Vitamin A: biomarkers of nutrition for development. **American Journal Clinical Nutrition**, v.94, p.658S–665S, 2011.

THANANGKUL, O.; PROMKUTKAEW, C.; WANIYAPONG, T.; DAMRONGSAK, D. Comparison of the effects of a single high dose of vitamin A given to mother and infant upon plasma levels of vitamin A in the infant. **Presented at a joint WHO/USAID meeting: The Control of Vitamin A Deficiency: Priorities for Research and Action Programmes.** NUT/WP/74.114, Jakarta, Nov., p. 25–29, 1974.

UNDERWOOD, B.A. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. **American Journal Clinical Nutrition**, v.59, s.2, p.517S-22S, 1994.

WHO/UNICEF. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes.** Geneva, Switzerland: 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes.** Geneva, World Health Organization, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Reducción de la mortalidad materna.** Declaración conjunta OMS/FNUAP/UNICEF/Banco Mundial. Ginebra: OMS, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life.** Geneva: WHO, p. 22-6, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence of vitamin A deficiency in**

populations at risk 1995–2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency. Geneva: World Health Organization, 2009.

WHO/CDH. Immunization-Linked Vitamin A Supplementation Study Group. Randomised trial to assess benefits and safety of vitamin A supplementation linked to immunization in early infancy. **Lancet**, v.352, p.1257-63, 1998.

APÊNDICE A**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, _____, registro nº _____,

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

- 1) O estudo tem como objetivo avaliar o efeito da suplementação materna com 400.000 UI de palmitato de retinol oral no pós-parto imediato, na situação nutricional do binômio mãe-filho, e no crescimento e na morbidade das crianças em aleitamento materno e até os seis primeiros meses de vida.
- 2) Não existem riscos potenciais à saúde dos examinados. No entanto todos os pacientes serão monitorados para detecção precoce de eventuais efeitos secundários da megadose de vitamina A mediante exame clínico/ofthalmológico. O eventual surgimento de um efeito adverso, o mesmo será prontamente contornado pela equipe de saúde do projeto. No que diz respeito a coleta de material biológico serão repassadas as informações concernentes ao procedimento, inclusive sensação dolorosa, aparecimento de hematomas, etc e a equipe se responsabilizará pela assistência adequada.
- 3) Receberei respostas a perguntas ou esclarecimentos a qualquer dúvida, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa; para isso, poderei me comunicar em qualquer momento com as pesquisadoras (Fátima Caminha, Taciana Fernandes, Carmina Santos e Luciana Andreto), pelos telefones 88412121, 92324542, 91682796 e 91080939
- 4) Será aplicado um questionário para se conhecer os alimentos consumidos pela mãe, em especial os alimentos fontes de vitamina A e de ferro.
- 5) Estou concordando livremente em participar, sem receber qualquer tipo de pressão.
- 6) Continuarei a ser atendida no IMIP, dispondo de toda atenção, independentemente da minha participação na pesquisa.
- 7) Não serei identificada e será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à minha privacidade.
- 8) Tenho o direito de saber o resultado da pesquisa, se assim o desejar.
- 9) Poderei abandonar a qualquer momento a pesquisa caso não me sinta satisfeita, sem que isso venha prejudicar o meu atendimento no IMIP.

Declaro, finalmente, que concordei em participar da pesquisa

Recife, ____/____/____

ENTREVISTADA

PESQUISADORA

APÊNDICE B
QUESTIONÁRIO DE TRIAGEM

1. Data: ____/____/____
2. Número do questionário _____
3. Número do prontuário _____
- Nome da Mãe: _____
- Endereço: _____
- Bairro: _____
- Ponto de referência: _____ Fone: () _____
4. Idade (anos): _____ Data do nascimento ____/____/____
5. N° gestações (incluindo a atual): _____ 6. N° abortos: _____
- Data último parto/aborto: _____
- DUM ____/____/____
7. Intervalo intergestacional: ____ (anos)
8. Idade gestacional _____
9. Número de consultas: _____
10. N° de pessoas no domicílio: _____
11. Renda familiar R\$ _____
12. Renda per capita _____
13. Escolaridade: (último ano cursado com aprovação) Série _____ Grau _____
14. Atividade atual:
- 1-Estudante: 2-Do 3-Doméstica/babá 4 -Outros _____
- lar
15. Situação conjugal:
- 1-Casada ou mora com o companheiro
- 2-Solteira 3-Viúva 4-Outros _____
16. Você fumou durante a gestação?
1. Sim
2. Não
3. Nunca fumou
17. Seu companheiro fuma?
1. Sim
2. Não
18. Se sim, quantos cigarros/dia: _____

19. Você bebeu na gravidez: (bebida alcoólica)?

1. Sim
 2. Não
 3. Nunca bebeu

20. Você usou drogas ilícitas na gestação?:

1. Sim
 2. Não
 3. Nunca usou

21. Você tem dificuldade de ver durante o dia?

1. Sim 2. Não

22. Você tem dificuldade de ver com a diminuição da luz (ao entardecer) ou à noite?

1. Sim 2. Não

23. Se sim, já tinha este problema antes da gravidez?

1. Sim
 2. Não
 3. Não se aplica

24. E é só você que tem esse problema ou outras pessoas da sua família tem esse mesmo problema?

1. Sim
 2. Não
 3. Não se aplica

25. Peso1 (kg)	_____	26. Peso2 (kg)	_____
27. Altura1 (m)	_____	28. Altura2 (m)	_____
29. Circunferência do braço1	_____	30. Circunferência do braço2	_____

Foi coletado: Sangue materno? Sim Não

Sorologia Materna

Hemograma		35.Retinol:	
31. Hb:		36.PCR:	
32. Htc:		37. Ferro sérico:	
33. RDW:		38. Capacidade de ligação do ferro:	
34.VCM:		39.Transferrina:	

Nome entrevistador: _____

APÊNDICE C
MANUAL DE ORIENTAÇÃO DA PESQUISA

PROJETO PESQUISA:

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

MANUAL DO PESQUISADOR

EQUIPE DE ELABORAÇÃO:

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

RECIFE

2007

SUMÁRIO

1. Instruções básicas03
2. Equipe de trabalho03
3. Aspectos éticos da pesquisa04
4. Instruções gerais05
5. Normas padronizadas07
5.1 Medidas antropométricas07
5.2 Morbidade08
5.3 Medidas bioquímicas09
5.4 Consumo alimentar13
6. Formulários15

INSTRUÇÕES BÁSICAS

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

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

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

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

1.- EQUIPE DE TRABALHO

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

ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

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

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

2.- INSTRUÇÕES GERAIS

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

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

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

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

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

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

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

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

Sempre que encontrar a palavra “outro”, especificar.

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

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

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

3.- NORMAS PADRONIZADAS

5.1 - Tomada de medidas antropométricas

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

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

Peso da criança:

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

Comprimento da criança:

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

Peso da mãe:

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

Altura da mãe:

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

Circunferência do Braço

A circunferência deve ser medida no ponto médio entre o acrômio (ombro) e o olécrano (cotovelo). Para sua obtenção da medida deve-se utilizar o braço não dominante, flexionado-o em direção ao tórax, fazendo um ângulo de 90⁰ para indicação do ponto médio. Feito isso, solicitar a gestante/puérpera que deixe o braço estendido ao longo do corpo com a palma da mão voltada para a coxa, em seguida contornar o braço com a fita flexível no ponto marcado de forma ajustada, sem compressão da pele ou folga.

5.2 – Morbidade

As perguntas devem ser feitas a mãe/responsável pela criança. Deve-se fazer referência a quinzena anterior à visita domiciliar. Se a criança apresentar alguns desses sinais ou sintomas do quadro abaixo no momento da visita e não na semana anterior, o entrevistador deve orientar a mãe/responsável que informe a situação na quinzena seguinte e que, haverá contato por telefone, para agendar uma consulta para reavaliação, se for necessário.

AVALIAÇÃO DA MORBIDADE:

Técnicas de avaliação	<i>Descrição</i>
Febre	Relato de febre pela mãe (responsável) ou quente ao toque no exame físico (dorso da mão do examinador no tórax) ou temperatura axilar \geq a 38° C por um período > 48 h (AIDPI,2003)
Episódios de diarreia	Referida pela mãe ou ocorrência de \geq 3 evacuações amolecidas ou líquidas ou pelo menos 01 evacuação com sangue visível em um período de 24 h (WHO, 1998).
Infecção respiratória aguda	Presença um ou mais sintomas como tosse, dificuldade de respirar, coriza, dor de garganta. A febre pode ou não estar presente. O reaparecimento dos sintomas após 7 dias ou mais de interrupção, foi considerado como um novo episódio (BARATA et al., 1996).
Infecção aguda ouvido	Presença de otalgia, febre, irritabilidade, dor de ouvido. Podendo ocorrer a presença de secreção purulenta no ouvido. Otoscopia com hiperemia e abaulamento da membrana timpânica (RAHAMATULLAH

	et al., 1991).
Deficiência de vitamina A (DVA)	Presença de mancha de bitot, xerose conjutival, xerose corneal ou úlcera de córnea. (RAHAMATULLAH et al., 1991).

5.3 – Medidas bioquímicas

5.3.1. Coleta de sangue

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

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

As coletas subseqüentes de sangue serão realizadas bimensalmente até o sexto mês pós-parto no ambulatório de puericultura do IMIP. O técnico irá colher 10 ml de sangue por punção venosa cubital na mãe, em jejum, pela manhã e 5ml na criança. Após a coleta, parte do sangue (amostras) em tubos devidamente etiquetados, será enviada para análise dos parâmetros hematológicos no laboratório do IMIP e, a outra parte, após uma hora de decantação, os tubos contendo as amostras serão centrifugados a 3000 rpm (rotação por minuto), durante 10 minutos, separado o soro que será acondicionado em tubos eppendorf, protegidos da luz e armazenado no freezer à temperatura de - 20°C. Serão transportados para o laboratório do CIMICRON/UFPB, em caixas de isopor com gelo para análise de retinol sérico.

5.3.2. Coleta do leite materno

O colostro será coletado por auxiliar devidamente treinada, de uma única mama (direita) que não tenha servido para amamentação do bebê por no mínimo 3 horas. Assim que estiverem juntos mãe e bebê, a mãe oferecerá esta mama durante quinze minutos, após este período, o bebê deverá ser retirado da mama direita sendo oferecida a mama esquerda, e o leite restante da mama direita será ordenhado por bomba elétrica durante vinte minutos e acondicionado em recipientes de vidro previamente esterilizado. Os tubos serão armazenados sob refrigeração a -20°C permanecendo até posterior análise. Nas consultas bimestrais, serão realizadas coletas do leite materno, obedecendo a mesma técnica realizada para coleta do colostro.

5.4 - PROCESSAMENTO E ANÁLISE

5.4.1 Retinol sérico

O retinol sérico será dosado, obedecendo ao método estabelecido por Furr e colaboradores (1992). Após o descongelamento, serão pipetados $100\mu\text{L}$ de soro de cada amostra e colocados em tubos cônicos de vidro, identificados, e adicionados $100\mu\text{L}$ de etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), para promover a precipitação das proteínas, e $200\mu\text{L}$ de hexano (C_6H_{14}), responsável pela extração do retinol. Em seguida, as amostras serão agitadas por 30 segundos, no agitador de tubos, em velocidade contínua, e centrifugados, à velocidade de 3000 rpm, durante 5 minutos.

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

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

5.4.2 Retinol no leite materno

O retinol no leite materno será dosado, obedecendo ao método estabelecido por Giuliano e colaboradores (1992). Após descongelamento das amostras de leite até 37° , por agitação em banho de água por 60 oscilações por minuto, será adicionado ethanol absoluto e

KOH. Amostras serão lavadas com argon, cobertas com tampas fenólicas forradas com teflon, e sonificadas por 5 minutos em banho de água em sonificador.

Seguindo a saponificação, será aderido hexane para cada amostra de leite. As amostras serão vigorosamente misturadas por movimento e sonificação por 5 minutos, então transferidas para tubos descartáveis de 16 x 125mm, onde serão centrifugadas por 10 minutos. A camada resultante de hexane será retirada e a camada aquosa será re-extraída com hexane, onde serão vigorosamente misturadas por movimento e sonificação por 10 minutos. As camadas combinadas com hexane serão evaporadas sob nitrogênio.

Para remover impurezas solúveis em água das camadas combinadas de hexane, amostras serão extraídas com ethanol absoluto e água deionizada, e transferidas para tubos descartáveis de 13 x 100mm. Esta mistura é vortexada e sonificada por 5 minutos acompanhada por centrifugação por 10 minutos. A camada de hexane resultante é removida e guardada em tubo para microcentrifugação. A camada aquosa será re-extraída com hexane, como já explicado anteriormente. As camadas combinadas de hexane serão evaporadas com nitrogênio até ficarem secas e redissolvidas em THF-methanol. Uma mais alta percentagem de THF-methanol será necessária para solubilizar os carotenóides adequadamente. Seguindo a sonificação de 30 segundos, 200 microlitros da amostra serão colocados dentro do HPLC, método cromatográfico que será utilizado nesta pesquisa para determinar os níveis de vitamina A no leite materno.

5.4.3 Hemoglobina – Hb

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

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

5.4.4 Ferritina Sérica

Os teores de ferritina sérica serão determinados pelo método ELISA (DE MAEYER et al., 1991), no IMIP. A ferritina sérica será medida em nanogramas por mililitro (ng/ml). (MORAIS et al., 1992; KUIZON et al., 1996; KILBRI et al., 2000).

5.4.5 Ferro Sérico - Fe

Os teores de ferro sérico serão avaliados pelo método colorimétrico com ferrozine (DE MAEYER et al., 1991), no IMIP. O ferro sérico será medido em microgramas por decilitro ($\mu\text{g}/\text{dl}$). (MORAIS et al., 1992; RIBEIRO e TONE, 1996).

5.4.6 Capacidade Total de Ligação do Ferro - CTLF

As concentrações da CTLF serão mensuradas pelo método colorimétrico com ferrozine (DE MAEYER et al., 1991), no IMIP. A CTLF será medida em microgramas por decilitro ($\mu\text{g}/\text{dl}$). (RIBEIRO e TONE, 1996).

5.4.7 Saturação de Transferrina - Str

O percentual de saturação de transferrina será obtido, a partir dos resultados do ferro sérico e da CTLF, utilizando-se a fórmula (HERSHKO et al., 1981; MORAIS et al., 1992; RETTMER et al., 1999).

$$\text{FeS} \times 100$$
$$\text{CTLF}$$

5.5 – Consumo alimentar

Puérperas

Registrar ou descrever a ingestão dos alimentos utilizados pela puérpera com base em uma lista por grupos de alimentos e sua frequência de consumo por dia/semana/mês e a quantidade ingerida. Trata-se de uma estimativa de consumo cujas porções são referidas mediante o uso de medidas caseiras. É o método chamado de questionário de frequência alimentar semiquantitativo.

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

CUIDADOS NA COLETA DE INFORMAÇÕES:

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

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

N = nunca comeu

<1 = pelo menos 1 vez por semana

1 sem = 1 vez por semana

2 a 4 vezes por semana

5 a 6 vezes por semana

todos os dias

no dia: 1 dia - 2 ou + ao dia

P = pequena

M = média

G = grande

Crianças

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

6- . FORMULÁRIOS

6.1 - Formulário – Triagem

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

Checar a coleta de leite materno e a coleta de sangue_mãe/filho BIMESTRAL

6.1.1 – Dados pessoais

Número do formulário: este campo será preenchido previamente.

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

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

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

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

Endereço: registrar o endereço completo da residência do entrevistado.

Bairro: bairros da cidade do Recife ou região metropolitana.

Ponto de referência: ponto comercial, igreja ou outro.

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

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

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

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

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

Intervalo intergestacional: calcular posteriormente.

DUM: anotar a data do 1 dia da última menstruação

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

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

6.1.2 - Avaliação socioeconômica

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

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

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

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

Atividade atual: descrever a atividade profissional que exerce.

Situação conjugal: anotar a referida pela gestante.

6.1.3 - Hábitos comportamentais

Hábito de fumar:

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

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

Hábito de beber:

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

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

Uso de drogas ilícitas:

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

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

6.1.4 – Rastreamento Clínico

Cegueira noturna na gestante:

Perguntar se a gestante tem algum problema na visão. Se sim, se esse problema ocorre apenas ao anoitecer. Se a mesma responder sim, perguntar se ela já tinha essa dificuldade antes de engravidar, e por fim, perguntar se a gestante tem cegueira noturna.

Estado Nutricional da gestante:

O peso, altura e circunferência do braço, deverão atender às **NORMAS PADRONIZADAS PARA A TOMADA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS** descritas anteriormente.

Número de consultas pré-natal: número de consultas que a gestante compareceu ao pré-natal.

Exames realizados: Assinalar com um X no quadro correspondente aos exames realizados pela gestante durante o pré-natal.

Vacinas administradas: perguntar a gestante e escrever por extenso a (s) vacina (s) que foram administradas durante o pré-natal.

6.2 - Formulário do PPP/COB

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Coletar o colostro e anotar no formulário.

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

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

Morbidade na criança (febre e/ou diarreia): Se Sim:

Febre: anotar há quantos dias (caso tenha sido um dia antes ou no dia da entrevista, telefonar para a mãe 48 horas depois para saber o período que a criança continuou com febre). Perguntar se a febre foi identificada apenas pelo toque ou se fez uso de termômetro, onde acusou temperatura maior ou igual a 37,5°C. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Diarreia: anotar há quantos dias (caso tenha sido no dia da entrevista, telefonar para a mãe 24 horas depois para saber o período que a criança continuou com diarreia). Checar se igual ou maior que três evacuações amolecidas ou líquidas por dia, e se ao menos uma evacuação com sangue visível por dia. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Perguntar se a amamentação foi suspensa durante o período da diarreia e marcar com X em sim ou não.

Perguntar se ofereceu algo para tratar a diarreia e se Sim, anotar o que foi oferecido a criança.

Tosse: Perguntar se a criança tossiu alguma vez neste primeiro mês de vida. Se sim, perguntar se durante a tosse a criança apresentou febre, cansaço, nariz entupido, **dor de ouvido**, dificuldade de respirar e respiração rápida.

Internamento: perguntar se nos últimos 15 dias a criança teve algum internamento hospitalar ou foi atendida em emergência. Marcar com X em sim ou não, e perguntar se foi emergência, ou no posto de saúde, ou internamento hospitalar. Se houve internamento perguntar o motivo e quantos dias de internamento.

Perguntar se durante a doença a criança fez uso de antibioticoterapia ou hidratação venosa.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Morbidade na criança (febre e/ou diarreia): Se Sim:

Febre: anotar há quantos dias (caso tenha sido um dia antes ou no dia da entrevista, telefonar para a mãe 48 horas depois para saber o período que a criança continuou com febre). Perguntar se a febre foi identificada apenas pelo toque ou se fez uso de termômetro, onde acusou temperatura maior ou igual a 37,5°C. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Diarreia: anotar há quantos dias (caso tenha sido no dia da entrevista, telefonar para a mãe 24 horas depois para saber o período que a criança continuou com diarreia). Checar se igual ou maior que três evacuações amolecidas ou líquidas por dia, e se ao menos uma evacuação com sangue visível por dia. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Perguntar se a amamentação foi suspensa durante o período da diarreia e marcar com X em sim ou não.

Perguntar se ofereceu algo para tratar a diarreia e se Sim, anotar o que foi oferecido a criança.

Tosse: Perguntar se a criança tossiu alguma vez neste primeiro mês de vida. Se sim, perguntar se durante a tosse a criança apresentou febre, cansaço, nariz entupido, **dor de ouvido**, dificuldade de respirar e respiração rápida.

Internamento: perguntar se nos últimos 15 dias a criança teve algum internamento hospitalar ou foi atendida em emergência. Marcar com X em sim ou não, e perguntar se foi emergência, ou no posto de saúde, ou internamento hospitalar. Se houve internamento perguntar o motivo e quantos dias de internamento.

Perguntar se durante a doença a criança fez uso de antibióticoterapia ou hidratação venosa.

Agendar a próxima consulta da criança na puericultura com data e hora, conforme agendamento da enfermeira do setor.

Agendar a visita domiciliar de acordo com a disponibilidade da mãe.

6.5 - Formulário da Primeira Visita Domiciliar (1 mês e meio)

Os dados a serem coletados serão referentes a morbidade da criança, sobre o aleitamento materno, inclusive reforçando sobre o benefício do leite materno para a criança. Na primeira visita fazer rapidamente um check list dos dados sobre o registro domiciliar e sócio-econômicos.

O grupo que a puérpera/criança pertence, o número do formulário, o nome da mãe, o nome e o sexo da criança, endereço, bairro, ponto de referência e telefone já estarão preenchidos.

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

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

Data da entrevista: anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano da realização da primeira visita domiciliar.

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

Registro domiciliar: perguntar a puérpera e anotar de acordo com a observação do entrevistador.

Tipo, regime de ocupação, paredes, piso e cobertura: Assinalar com um X no quadro correspondente. Quando **outro**, escrever por extenso.

OBS: Nas questões referentes a paredes, piso e cobertura, anotar o **material predominante**. Caso seja metade de cada, codificar como **outro** e especificar.

Abastecimento d'água: assinalar de acordo com as instruções: (quando outro, ou combinação de duas respostas, escrever por extenso)

- **com canalização interna** – quando a família dispõe de água encanada dentro de casa.
- **sem canalização interna** – quando a família não dispõe de água encanada dentro de casa, só dispondo no máximo de uma torneira no terreno.

Tratamento da água de beber: assinalar a opção mais utilizada no tipo de tratamento da água utilizada para beber, se mais de duas opções assinalar e especificar em outros Considerar **clorada** a água que recebe cloro adicional no domicílio. Caso não exista tratamento d'água na residência, assinalar em outros: “**sem tratamento**”.

Esgotamento Sanitário: anotar de acordo com as especificações: (quando outro, ou combinação de duas respostas escrever por extenso)

- **Sanitário ligado à rede de esgoto** – quando dejetos e águas servidas vão para a canalização da rua.
- **Sanitário ligado à fossa com tampa** – quando dejetos e águas servidas vão para uma fossa com tampa.
- **Sanitário ligado à fossa aberta** – quando os dejetos vão para uma fossa sem tampa (casinha ou buraco negro).

Banheiro: Assinalar com um X no quadro correspondente. Quando **outro**, escrever por extenso.

Destino do lixo: Assinalar com um X no quadro correspondente. Quando **outro**, escrever por extenso.

Cômodos: observar e perguntar se necessário (terraço e banheiro não são cômodos). Muitas vezes as pessoas não possuem quartos, mas dormem em cômodos, como sala ou cozinha.

Das letras “l a r” marcar 1 (tem) ou 2 (não tem).

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

Morbidade na criança (febre e/ou diarreia): Se Sim:

Febre: anotar há quantos dias (caso tenha sido um dia antes ou no dia da entrevista, telefonar para a mãe 48 horas depois para saber o período que a criança continuou com febre). Perguntar se a febre foi identificada apenas pelo toque ou se fez uso de termômetro, onde acusou temperatura maior ou igual a 37,5°C. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Diarreia: anotar há quantos dias (caso tenha sido no dia da entrevista, telefonar para a mãe 24 horas depois para saber o período que a criança continuou com diarreia). Checar se igual ou maior que três evacuações amolecidas ou líquidas por dia, e se ao menos uma evacuação com sangue visível por dia. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Perguntar se a amamentação foi suspensa durante o período da diarreia e marcar com X em sim ou não.

Perguntar se ofereceu algo para tratar a diarreia e se Sim, anotar o que foi oferecido a criança.

Tosse: Perguntar se a criança tossiu alguma vez neste primeiro mês de vida. Se sim, perguntar se durante a tosse a criança apresentou febre, cansaço, nariz entupido, dor de ouvido, dificuldade de respirar e respiração rápida.

Internamento: perguntar se nos últimos 15 dias a criança teve algum internamento hospitalar ou foi atendida em emergência. Marcar com X em sim ou não, e perguntar se foi emergência, ou no posto de saúde, ou internamento hospitalar. Se houve internamento perguntar o motivo e quantos dias de internamento.

Perguntar se durante a doença a criança fez uso de antibioticoterapia ou hidratação venosa.

Confirmar a agenda da próxima consulta da criança na puericultura com data e hora, conforme agendamento anterior.

Orientar a mãe jejum no mínimo de 04 horas e que não ofereça sua mama direita no mínimo três horas antes de ir ao IMIP.

6.5 - Formulário da Visita Domiciliar (2, 3, 4 e 5 meses e meio)

Os dados a serem coletados serão referentes a morbidade da criança, sobre o aleitamento materno, inclusive reforçando sobre o benefício do leite materno para a criança.

O grupo que a puérpera/criança pertence, o número do formulário, o nome da mãe, o nome e o sexo da criança, endereço, bairro, ponto de referência e telefone já estarão preenchidos.

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

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

Data da entrevista: anotar no início da entrevista nos espaços correspondentes a dia/mês/ano da realização da primeira visita domiciliar.

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

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

Morbidade na criança (febre e/ou diarreia): Se Sim:

Febre: anotar há quantos dias (caso tenha sido um dia antes ou no dia da entrevista, telefonar para a mãe 48 horas depois para saber o período que a criança continuou com febre). Perguntar se a febre foi identificada apenas pelo toque ou se fez uso de termômetro, onde acusou temperatura maior ou igual a 37,5°C. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Diarreia: anotar há quantos dias (caso tenha sido no dia da entrevista, telefonar para a mãe 24 horas depois para saber o período que a criança continuou com diarreia). Checar se igual ou maior que três evacuações amolecidas ou líquidas por dia, e se ao menos uma evacuação com sangue visível por dia. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Perguntar se a amamentação foi suspensa durante o período da diarreia e marcar com X em sim ou não.

Perguntar se ofereceu algo para tratar a diarreia e se Sim, anotar o que foi oferecido a criança.

Tosse: Perguntar se a criança tossiu alguma vez neste primeiro mês de vida. Se sim, perguntar se durante a tosse a criança apresentou febre, cansaço, nariz entupido, dor de ouvido, dificuldade de respirar e respiração rápida.

Internamento: perguntar se nos últimos 15 dias a criança teve algum internamento hospitalar ou foi atendida em emergência. Marcar com X em sim ou não, e perguntar se foi emergência, ou no posto de saúde, ou internamento hospitalar. Se houve internamento perguntar o motivo e quantos dias de internamento.

Perguntar se durante a doença a criança fez uso de antibioticoterapia ou hidratação venosa.

Confirmar a agenda da próxima consulta da criança na puericultura com data e hora, conforme agendamento anterior.

Orientar a mãe jejum no mínimo de 04 horas e que não ofereça sua mama direita no mínimo três horas antes de ir ao IMIP.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Morbidade na criança (febre e/ou diarreia): Se Sim:

Febre: anotar há quantos dias (caso tenha sido um dia antes ou no dia da entrevista, telefonar para a mãe 48 horas depois para saber o período que a criança continuou com febre). Perguntar se a febre foi identificada apenas pelo toque ou se fez uso de termômetro, onde acusou temperatura maior ou igual a 37,5°C. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Diarreia: anotar há quantos dias (caso tenha sido no dia da entrevista, telefonar para a mãe 24 horas depois para saber o período que a criança continuou com diarreia). Checar se igual ou

maior que três evacuações amolecidas ou líquidas por dia, e se ao menos uma evacuação com sangue visível por dia. Não deixar de anotar em outros, caso seja necessário.

Perguntar se a amamentação foi suspensa durante o período da diarreia e marcar com X em sim ou não.

Perguntar se ofereceu algo para tratar a diarreia e se Sim, anotar o que foi oferecido a criança.

Tosse: Perguntar se a criança tossiu alguma vez neste primeiro mês de vida. Se sim, perguntar se durante a tosse a criança apresentou febre, cansaço, nariz entupido, dor de ouvido, dificuldade de respirar e respiração rápida.

Internamento: perguntar se nos últimos 15 dias a criança teve algum internamento hospitalar ou foi atendida em emergência. Marcar com X em sim ou não, e perguntar se foi emergência, ou no posto de saúde, ou internamento hospitalar. Se houve internamento perguntar o motivo e quantos dias de internamento.

Perguntar se durante a doença a criança fez uso de antibioticoterapia ou hidratação venosa.

Agendar a próxima consulta da criança na puericultura com data e hora, conforme agendamento da enfermeira do setor .

Agendar a segunda visita domiciliar de acordo com a disponibilidade da mãe.

6.8 – Consumo alimentar

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

**ANEXO 1 - PARECER DO COMITÉ DE ÉTICA E PESQUISA DO INSTITUTO DE
MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA, IMIP.**

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

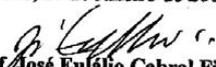


C Ó P I A

DECLARAÇÃO

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

Recife, 27 de Janeiro de 2006.


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

UTILIDADE PÚBLICA MUNICIPAL - Dec. Lei 9651 de 06/11/97
UTILIDADE PÚBLICA ESTADUAL - Dec. Lei 5013 de 14/05/84
UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL - Dec. Lei 86238 de 30/07/81
INSCRIÇÃO MUNICIPAL: 05.697-1
INSCRIÇÃO ESTADUAL: Isento
CNPJ: 10.988.301/0001-20

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

ANEXO 2

Guide for Authors

- *Nutrition* provides an international forum for professionals interested in the **applied and basic biomedical nutritional sciences, and publishes papers both of clinical interest and of scientific import**. Investigators are encouraged to submit papers in the disciplines of nutritionally related biochemistry, genetics, immunology, metabolism, molecular and cell biology, neurobiology, physiology, and pharmacology. Papers on nutrition-related plant or animal sciences which are not of direct relevance to man, whereas occasionally of interest are not the main focus of the Journal.

CONDITIONS OF PUBLICATION — ETHICAL AND LEGAL CONSIDERATIONS

All material submitted to *Nutrition*, for any section of the journal, is considered for publication on the understanding that authors (including all coauthors) agree to *Nutrition's* publication policies as stated in this section of the Guidelines to Authors.

In the event of non-compliance with these conditions of publication, including issues that surface after a contribution is published, *Nutrition's* rights include: sending a notice of failure to comply to authors' employers and funding agencies; and/or informing readers via a published correction/retraction; the latter is linked to the original contribution via electronic indexing and becomes part of the formal published record.

Research/publication misconduct is a serious breach of ethics. Such misconduct includes:

- i) Redundant or duplicate publication by same author(s),
- ii) Publication in another source by the same author(s) without acknowledgement or permission from the publisher, or
- iii) Plagiarism or self-plagiarism (publication of material without acknowledging original author source).
- iv) Fabrication of data, not substantiable via review of research records.

Should such publications occur, editorial action would be taken. In certain cases, secondary publication is justifiable and even beneficial; however, such circumstances should be prospectively discussed with and agreed upon by the Editor-In-Chief.

Nutrition will not accept a submission of work previously reported in large part in a published article (duplicate) or that is contained in another paper submitted or accepted for publication in *Nutrition* or elsewhere.

Authorship

Corresponding Author: One author is designated the corresponding author (not necessarily the senior author) who will be approached to clarify any issues, such as those pertaining to materials and methods, or technical comments. If *Nutrition* receives feedback from its readers concerning the published paper, the corresponding author will be contacted. It is this author's responsibility to inform all coauthors of such matters to ensure they are dealt with promptly.

The corresponding author must affirm in the cover letter at the time of submission that:

1. None of the material in the manuscript is included in another manuscript, has been published previously, or is currently under consideration for publication elsewhere. This includes symposia proceedings, transactions, books, articles published by invitation, and preliminary publications of any kind except an abstract of less than 250 words. If there is any question concerning potential overlap, the related material must be included for evaluation.
2. Ethical guidelines were followed by the investigator in performing studies on humans or animals and should be described in the paper. The approval of the institutional review board of either animal or human ethics committee must be cited in the Methods.
3. Each author must have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content of the paper and must approve of the final version of the manuscript. Authorship should be based on substantive contributions to each of the following: conception and design of the study; generation, collection, assembly, analysis and/or interpretation of data; and drafting or revision of the manuscript; approval of the final version of the manuscript. Authors are required to include a statement in the Acknowledgements to specify the actual contribution of each coauthor under the above headings.

4. If requested, the authors will provide the data or will cooperate fully in obtaining and providing the data on which the manuscript is based for examination by the editors or their assignees

Conflict of Interest

Conflict of interest regarding a manuscript exists when a participant in the peer review and publication process—author, reviewer, or editor—has ties to activities that could inappropriately influence his or her impartial judgment, whether or not judgment is in fact affected. Financial relationships with industry are usually considered to be the most important conflicts of interest. However, conflicts can occur for other reasons, such as personal relationships or academic competition. See [Competing Interest Form](#) for instructions about the competing interests statement.

CATEGORIES OF MANUSCRIPTS

Nutrition publishes a wide range of articles, which includes original investigations, review articles, rapid communications, research letters, case reports and special category manuscripts. Manuscripts must be prepared in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" developed by the International Committee of Medical Journal Editors (*N Engl J Med* 1991;324:424-428). All submissions are peer reviewed.

Original Investigation (3000-5000 words including tables, figures and references)

Original investigations are considered full-length applied (human) or basic (bench work) research reports. They cover topics relevant to clinical and basic studies relevant to man in the following areas nutritionally related biochemistry, genetics, immunology, metabolism, molecular and cell biology, neurobiology, physiology, and pharmacology. Studies in adult and pediatric populations are welcome. The work presented in the manuscript must be original; studies confirming previous observations will be considered. Other considerations of a paper's publishability are its importance to the science, the soundness of the experimental design, the validity of methods, the appropriateness of the conclusions and the quality of presentation.

Rapid Communication (1000-3000 words including tables, figures and references)

Papers representing concise and original studies of scientific importance are considered. In the cover letter the author should justify the request for Rapid Communication. The review process is 10 days, authors are allowed one revision if accepted, and the final version of the paper appears in the next available issue of the journal.

Research Letter (up to 1000 words, including up to 10 references and 1 figure or table)

A Research Letter contains new data or a clinical observation, in a format that allows for rapid publication.

Review Article (up to 5000 words including tables, figures and references)

In-depth, comprehensive state of the art reviews on a nutritional topic are welcomed. Reviews may be invited by the Editor or may be unsolicited viewpoints.

Case Report (up to 2500 words including tables figures, and references) Case Reports include case studies of 4 or fewer patients that describe a novel situation or add important insights into mechanisms, diagnosis or treatment of a disease.

Editorial (up to 1000 words including tables, figures and references)

Editorials express opinions on current topics of interest, or provide comments on papers published in *Nutrition* or other journals. Editorials are generally solicited by one of the Editors.

Correspondence (Letter to the Editor) (1000 words including tables, figures and references)

Opinion pieces concerning papers published in *Nutrition* are particularly welcomed and all submissions are subject to editing. Letters commenting on past-published papers are sent to the corresponding author for a response. Letters are selected for their relevance and originality; not all letters submitted can be published.

Meeting Proceedings (up to 2500 words including tables, figures and references)

Reports of meeting proceedings are synopses of scientific meetings of interest to *Nutrition's* audience. Authors should e-mail the Editor to solicit potential interest 8 weeks prior to conference.

Collections of abstracts representing the proceedings of organizational meetings are not subjected to customary peer review. It is the view of the Editorial Board that it is of service to the nutrition community to present such material as promptly as possible.

Hypothesis (up to 3000 words including tables, figures and references)

Novel insights into a significant questions or clinical issues are welcome, and will be peer reviewed. As the

definition of “hypothesis” suggests, articles of this type should be, although they lack direct experimental evidence, closely tied to empirical data and lead to testable predictions.

Special Article (up to 5000 words including tables, figures and references)

Associated with a particular special event, invitation or announcement; for example, the annual John M. Kinney Awards papers.

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Manuscripts must be written in English. Prior to submission, it is mandatory that authors have the manuscript evaluated and edited by a native English speaker. The layout and style should adhere strictly to the instructions given under **PREPARATION OF MANUSCRIPT**.

Cover Letter (see AUTHORSHIP)

The cover letter should make it clear that the final manuscript has been seen and approved by all authors and that they have taken due care to ensure the integrity of their work and their personal scientific reputation. Any potential conflicts of interest should be declared, in addition to any information on prior or duplicate publication (**see Ethical and Legal Considerations**).

Authors must recommend five potential referees, at least three of whom should be from outside the country of the principal author, together with their e-mail addresses. While *Nutrition* does not guarantee these reviewers will be called upon, these suggestions may facilitate the editorial decision. It is *Nutrition's* experience that friends are the harshest critics while investigators in the same field are the most objective. Also include any person(s) who should not be considered a potential reviewer.

SUBMISSION PROCEDURE - PREPARING ELECTRONIC MANUSCRIPTS

All new manuscripts must be submitted through *Nutrition's* online submission and review Web site (<http://ees.elsevier.com/nut/>). Use the following guidelines to prepare your submission. Once the uploading is done, the system automatically generates an electronic (PDF) proof (which is then used for reviewing). The corresponding author will be informed via e-mail that a PDF of the submission has been created and that approval is required from the corresponding author to begin the review process. Be sure to keep a backup copy of your paper for reference and safety. All correspondence should be with the Regional Editorial Offices. If a paper is accepted, the Production Office will correspond with the author via e-mail.

For online submission authors are requested to submit the text, tables and artwork in separate documents in electronic form to <http://ees.elsevier.com/nut/>. In an accompanying cover letter, authors should state that the manuscript, or parts of it, have not been and will not be submitted elsewhere for publication.

Text files should be supplied in one of the following formats: Microsoft Word Windows or Macintosh formatted. Format your paper (tabs, indents, etc.) consistently. Once a manuscript has been accepted, most formatting codes will be removed or replaced so there is no need to use excessive layout styling. Do not use options such as automatic word breaking, justified layout, double columns or automatic paragraph numbering. However, do use bold face, italic, subscripts, and superscripts for scientific nomenclature.

When preparing tables, if you are using a table grid, please use only one grid for each separate table and not a grid for each row. If no grid is being used, use tabs to align columns, not spaces.

Graphic files: see Artwork Instructions at http://cdn.elsevier.com/assets/pdf_file/0010/109963/Artwork.pdf. (Note: Only TIFF, EPS, or PDF formats are acceptable formats). Each figure should be a separate file and not be embedded in the text. All graphic files must be submitted in sufficiently high resolution (300dpi for grayscale or color images and 600-1000 dpi for line art) to allow for printing.

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Manuscripts should be typewritten, using DOUBLE SPACING and 1-inch margins. Pages should be numbered consecutively starting with the title page.

Title Page

This should include 1) title of paper (**use no abbreviations, limit: 120 characters with spaces**), 2) running head of fewer than 55 characters with spaces, 3) full names of all authors with highest academic degree(s); 4) affiliations of all authors; 4) role of each author in the work (see Authorship); 5) a word count for the entire manuscript (including figures and tables), and the number of figures and tables, 4) the complete mailing address

(including telephone, fax, and e-mail address of the corresponding author for e-mailing of proofs and reprint requests).

Acknowledgments

Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining permission of everyone acknowledged by name. If the name of the individual performing statistical consultation is not included with authors, acknowledgment must include name and degree of statistician. Acknowledge all funding and material support, both direct and indirect for the work represented by the manuscript; include commercial, institutional, and other forms of support.

Abstract

Abstracts should be no more than **250 words**. The structured abstract for an original investigation should be organized as follows:

Objective: The abstract should begin with a clear statement of the precise objective or question addressed in the paper. If a hypothesis was tested, it should be stated.

Research Methods & Procedures: The basic design of the study and its duration should be described. The methods used should be stated, the statistical data/methods provided and referenced.

Results: The main results of the study should be given in narrative form. Measurements or other information that may require explanation should be defined. Levels of statistical significance should be indicated, including other factors crucial to the outcome of the study.

Conclusion(s): State only conclusions that are directly supported by the evidence and the implications of the findings.

Key Words: 5—7 key words or phrases should be provided which should be selected from the body of the text and not duplicate title words.

Structure of Text

Introduction: Context of study.

Materials and Methods: Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference; only relevant modification should be described.

Results: These should be clear and concise and not duplicate data in Tables.

Discussion: This should be relevant to the results and placed in context of the current literature.

Conclusion: (no longer than 50 words) Summarize your findings.

References

References are numbered sequentially in the order in which they first appear in the text in square brackets. All references cited in the text should be listed at the end of the manuscript on a separate page. All items in the reference list should be cited in the text and conversely, all references cited in the text must be presented in the list. The Journal has adopted the Vancouver style, citing the first six authors and then adding et al. and uses page ranges.

References to periodicals should be as follows: name and initials of authors, title of paper, abbreviated journal title (conforming to those used in *Index Medicus*), year, and first and last pages of the article.

Book references should be as follows: author, initials, title of book, title of series and volume number (if applicable), publisher and city, and year.

Multi-author books or to proceedings printed in book form should be similar to those for monograph books.

Article

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957;266:497-509.

Article in Book

Johnson RK. Energy. In: Mahan LK, Escott-Stump S, editors. Krause's food, nutrition & diet therapy. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000, p. 19-30.

Book

Kline P. The handbook of psychological testing. London: Routledge; 1993.

The authors are responsible for the accuracy, relevance, and completeness of each reference.

For references to articles in press, supply the name of the journal. References to unpublished material, including written (not verbal) personal communications, should be included parenthetically in the text with investigators' names and initials.

Figures

Legends to Figures: Figure legends should be concise and clear and should not duplicate the body of the text. Each illustration must have a title and an explanatory legend. The title should be part of the legend and not be reproduced on the figure itself. The legends should be placed on a separate page at the end of the manuscript and begin with the number of the illustration they refer to. All symbols and abbreviations used in the figure including statistical information must be explained.

Figures and other graphic material: May be formatted in any common file format, such as TIFF, GIF, JPG, or BMP as long as quality and resolution are borne in mind.

All material submitted must have been originally produced with proportions that will remain legible when reduced to the width of a one-half page column in the final publication (Column width: 20 picas, 3", 8.3 cm). Text font size should be consistent both within each figure and among all figures in the document.

Authors are responsible for applying for permission for both print and electronic rights for all borrowed materials and are responsible for paying any fees related to the applications of these permissions.

Color Reproduction: If a manuscript containing color figures undergoes peer review and acceptance, it must be published with color figures. Authors are required to pay for the printing of color figures (\$650 for the first figure in an article, \$100 for every additional figure in the article).. If the author does not wish to pay for printing color figures, then the manuscript's figures must be in black and white at the time of submission and during the review process.

Tables

These should be typed double-spaced with each table on a separate page. Legends should contain sufficient information to provide an adequate understanding of the table by the reader without reference to the text.

MANUSCRIPT PROCESSING AND REVIEW

Review Process: All contributions selected for peer review are sent to at least two, independent reviewers, designated by the editors. Authors are required to suggest suitable independent referees and may also request that *Nutrition* excludes one or two (but no more) individuals or laboratories if there is a specific, declared conflict of interest.

Nutrition's editors may seek advice about submitted papers from technical and statistical referees on any aspect of a paper that raises concerns. These may include ethical issues or issues of data or materials access. As in all publishing decisions, the ultimate decision whether to publish is the responsibility of the Editor of the journal concerned.

Decisions: The single most important criterion for acceptance is the originality of the work. However, a decision to accept is not solely based on the scientific validity of the paper's content. Other factors affecting decisions include the extent and importance of new information in the paper compared with papers previously published or under consideration; the Journal's need to represent a wide range of topics and the overall suitability for *Nutrition*. Decision letters usually, but not always convey all factors considered for a particular decision. Occasionally the comments to the author may appear to be inconsistent with the editorial decision, which takes into consideration confidential reviewers' comments to the Editor as well as the above factors.

Author Checklist for Manuscript Submission 1) Double-spaced manuscript in PDF or MS Word-compatible format; with structured abstract, pages numbered, running head, key words, author(s)' full names, degrees and

affiliations.

- 2) Photos, legends, tables, and/or figures numbered sequentially (see Color Reproduction).
- 3) Cover letter including statement regarding declaration of authorship, of scientific integrity, and of any potential conflict of interest (See Competing Interest Form).
- 4) Address, e-mail, phone number and FAX number of corresponding author.
- 5) Names and e-mail addresses of 5 potential referees.

Manuscripts should be directed to the appropriate Office:

Africa, India, & Pakistan

Emeritus Professor Marietjie Herselman, MD, PhD
Stellenbosch University
4 James Walton Crescent
Durbanville 7550, South Africa
marietjie.herselman@gmail.com

Australia, New Zealand, Japan & Korea

Professor Peter James Little, BPharm, PhD
The Alfred Healthcare Group
Nutrition Services, Alfred Hospital
Victoria, Australia
peter.little@rmit.edu.au

China, Malaysia, Taiwan & Singapore

Professor Maria Isabel T. D. Correia, MD, PhD
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
CRMMG 20132
isabel_correia@uol.com.br

Eastern Europe

Professor Lubos Sobotka, MD, PhD
Charles University Teaching Hospital
Dept. of Metabolic Care & Gerontology
Sokolska, Hradek Kralove 500 05, Czech Republic
pustik@lfhk.cuni.cz

Western Europe

Professor Dr. Hans K. Biesalski, MD, PhD
University Hohenheim
Dept. of Biology, Chemistry & Nutrition Science
Stuttgart 30 70593, Germany
Hans-K.Biesalski@uni-hohenheim.de

Latin American Office

Jacqueline I. Alvarez-Leite, MD, PhD
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
CRMMG 20132
jalvarezleite@gmail.com

North America, Israel, & the Middle East

Emeritus Professor Michael Meguid, MD, PhD, MFA
Editor-in-Chief
c/o Department of Surgery
SUNY Upstate Medical University
Syracuse, NY 13210 USA
Nutrtn1@upstate.edu

Review & Meta-Analysis Articles

Undurti Das, MD, FAMS

UND Life Sciences
Shaker Heights, OH 44120, USA
undurti@hotmail.com

Case Reports

Professor Martin Crook, MD, PhD
Professor Martin A. Crook, BSc, MB, BS, MA, PhD, FRCPath, FRCP, FRCPI
Department of Clinical Biochemistry and Metabolic Medicine
University Hospital Lewisham, London, United Kingdom
University of Greenwich, Faculty of Science
Greenwich, United Kingdom
martin.crook@doctors.org.uk

PUBLISHING AND REPRINT INFORMATION

Accepted papers are sent to the publisher, Elsevier, upon acceptance. They will be immediately copyedited, typeset, and sent to authors for review. Articles will be uploaded to *Nutrition* online under the heading 'Articles in Press' for preprint viewing by subscribers as soon as author corrections are implemented.

Reprints: Forms for ordering article reprints are e-mailed to each contributor with the page proof and should be returned with the correct proofs. Authors do not receive free reprints and therefore are responsible for ordering their own reprints from the publisher. Prospective ordering of reprints is less expensive than retrospective. Bulk reprints are arranged via Elsevier.

Copyright

Publications are made subject to copyright for the protection of the authors and the publisher. A Transfer of Copyright Agreement will be sent to the corresponding author along with the page proof. The form must be completed and returned to the publisher before the article can be published.

Open Access

This journal offers authors two choices to publish their research;

1. Open Access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

2. Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee**

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-Non Commercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY NC SA).

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC-BY-NC-ND): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

*Creative Commons Attribution (CC-BY):*available only for authors funded by organizations with which we have established an agreement. For a full list please see www.elsevier.com/fundingbodies

Elsevier has established agreements with funding bodies. This ensures authors can comply with funding body Open Access requirements, including specific user licenses, such as CC-BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. www.elsevier.com/fundingbodies

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access. Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The Open Access publication fee for this journal is **USD 2500**, excluding taxes.

Learn more at www.elsevier.com/journals/nutrition/0899-9007/open-access-options