



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

LÉLIA SALES DE SOUSA

**ANEMIA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL NOS DOIS PRIMEIROS ANOS DE VIDA:
RESULTADOS DA COORTE MAL-ED, FORTALEZA_CEARÁ, BRASIL**

FORTALEZA

2023

LÉLIA SALES DE SOUSA

**ANEMIA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL NOS DOIS PRIMEIROS ANOS DE VIDA:
RESULTADOS DA COORTE MAL-ED, FORTALEZA _CEARÁ, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências Médicas. Área de concentração: Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo
Moreira Lima

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S697a Sousa, Lélia Sales de.
Anemia e inflamação intestinal no segundo ano de vida no segundo ano de vida: resultados da coorte MAL-ED- Brasil / Lélia Sales de Sousa 2023.
107 f. :ill color

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Coorientação: Profa. Dra. Bruna Leal Lima Maciel

1.estudo de coorte, anemia, segundo ano de vida, alimentação complementar, inflamação intestinal.

CDD 610

LÉLIA SALES DE SOUSA

ANEMIA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL NOS DOIS PRIMEIROS ANOS DE VIDA:
RESULTADOS DA COORTE MAL-ED, FORTALEZA (CEARÁ), BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências Médicas. Área de concentração: Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Bruna Leal Lima Maciel
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Prof^a. Dra. Daniela Vasconcelos de Azevedo
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof^a. Dra. Glaucia Posso Lima
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof^a. Dra. Richele Janaína de Araújo Machado
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Aos meus pais, pai (*in memoriam*) e a minha mãe

AGRADECIMENTOS

Gratidão Deus, primeiramente, pela provisão e por estar no controle em todas as circunstâncias.

À minha mãe pelas contínuas orações. Ao meu pai (*in memoriam*) que sempre investiu nos meus estudos sem medir esforços.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, um exemplo ímpar de pesquisador, grata por todo aprendizado

A Dra. Bruna Maciel, pela indescritível e paciente orientação. Minha gratidão e eterna admiração.

À Instituição Universidade Federal do Ceará (UFC), especificamente aos funcionários, servidores e discentes do LDI -Laboratório de Doenças Infecciosas, Quirino, Charles, Kátia, Kleybson, Terezinha e José, por todo apoio e companheirismo.

Às participantes da banca examinadora pelo tempo dedicado na leitura e contribuições preciosas.

À coordenação e secretaria da Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFC por toda disponibilidade e prontidão no atendimento.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta na concretização desse estudo.

Muito Obrigada.

“tudo o que é verdadeiro, tudo o que é honesto, tudo o que é justo, tudo o que é puro, tudo o que é amável, tudo o que é de boa fama, se há alguma virtude, e se há algum louvor, nisso pensai.”

Filipenses 4:8

RESUMO

A anemia é um dos problemas nutricionais mais comuns no mundo e pode gerar repercussões clínicas em crianças. No entanto, estudos longitudinais prospectivos que analisam a ingestão usual de nutrientes da alimentação complementar entre crianças com e sem anemia, considerando outros fatores como biomarcadores de inflamação intestinal durante os dois primeiros anos de vida, ainda são escassos. O objetivo deste estudo foi avaliar as associações entre anemia, indicadores antropométricos e ingestão de nutrientes da alimentação complementar, considerando a relação entre carga de patógenos intestinais e biomarcadores de inflamação intestinal nos dois primeiros anos de vida. Foram estudadas crianças brasileiras da coorte MAL-ED, no 7º mês, 15º mês e no 24º mês de idade. As variáveis bioquímicas analisadas foram hemoglobina, ferritina e um marcador de inflamação (alfa-1-glicoproteína ácida). O estado nutricional foi diagnosticado utilizando o índice de peso-por-idade escores-z (WAZ-*wheight for age*), índice de estatura-por-idade escores-z (HAZ - *height for age*) e o índice de peso-por-estatura escores-z (WHZ-*wheight for height*). A carga de patógenos foi detectada por meio de amostras de fezes mensais não diarreicas. A inflamação intestinal foi identificada por meio das concentrações fecais dos biomarcadores mieloperoxidase (MPO), neopterinina (NEO) e alfa-1- antitripsina (AAT) e a estimativa da ingestão usual de nutrientes deu-se através de recordatórios dietéticos de 24 horas mensais através do programa estatístico MSM (*Multiple Source Method*). Dois modelos de regressão logística foram construídos para avaliar os fatores associados à anemia e à anemia ferropriva. Foram analisadas as correlações entre Hb, ingestão de vitamina B12, biomarcadores fecais de inflamação intestinal e carga de patógenos. A prevalência de anemia decresceu ao longo dos tempos estudados, de 47,5% no 7º mês para 40,2% no 15º mês e 26% no 24º mês (Qui-quadrado, $p=0,002$). As crianças com anemia apresentaram menores scores-z para WAZ e HAZ no 7º mês (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$); entretanto, no 15º mês, as crianças com anemia apresentaram maiores índice scores-z para WAZ e WHZ (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). A carga de protozoários e a carga total de patógenos também decresceram ao longo dos períodos estudados (Pós Teste de Dunn, $p=0,000$). O consumo de vitamina B12 foi significativamente menor em crianças com anemia

no 15º mês (Mann-Whitney, $p=0,014$). A Hb se mostrou negativamente correlacionada com MPO (Spearman, $r_s= -0,190$, $p=0,046$) no 7º mês e positivamente correlacionada com o consumo de vitamina B12 (Spearman, $r_s=0,260$, $p=0,003$) no 15º mês. As regressões logísticas demonstraram que as crianças do sexo masculino apresentavam um maior risco para a anemia ferropriva (OR=4,57; IC 95% = 1,42 – 14,72), assim como crianças com maior indicador antropométrico WAZ apresentaram um maior risco para anemia (OR=1,32; IC 95% = 1,02 – 1,69). A anemia mostrou-se associada com maiores indicadores antropométricos relacionados ao peso, com pior ingestão dietética de vitamina B12 e com pior biomarcador de inflamação intestinal MPO. Contudo, a anemia não apresentou associação com a carga de patógenos, embora ambos tenham diminuído ao longo dos períodos. O sexo masculino demonstrou-se como um importante fator de risco para a anemia ferropriva nas crianças estudadas. Os resultados sugerem que o estado nutricional, o consumo alimentar e a inflamação intestinal são importantes fatores relacionados à anemia.

Palavras -chave: Estudo de Coorte. Anemia. Dois primeiros anos de vida. Alimentação Complementar. Inflamação Intestinal.

ABSTRACT

Anemia is one of the most common nutritional problems in the world and can generate clinical repercussions in children. However, prospective longitudinal studies that analyze the usual intake of nutrients of complementary feeding among children with and without anemia, considering other factors such as biomarkers of intestinal inflammation during the first two years of life, are still scarce. The aim of this study was to evaluate the associations between anemia, anthropometric indicators, and nutrient intake of complementary feeding, considering the relationship between intestinal pathogen load and biomarkers of intestinal inflammation in the first two years of life. Brazilian children from the MAL-ED cohort were studied at the 7th month, 15th month, and 24th month of age. The biochemical variables analyzed were hemoglobin, ferritin, and a marker of inflammation (alpha-1-glycoprotein acid). Nutritional status was diagnosed using the z scores of the anthropometric indices weight-for-age (WAZ), length-for-age (HAZ), and weight-for-length (WHZ). Pathogen load was detected using monthly non-diarrheal stool samples. Intestinal inflammation was identified by fecal concentrations of biomarkers myeloperoxidase (MPO), neopterin (NEO), and alpha-1- antitrypsin (AAT), and the estimation of usual nutrient intake was done by monthly 24-hour dietary recall using the MSM (Multiple Source Method) statistical programs. Two logistic regression models were built to evaluate the factors associated with anemia and iron-deficiency anemia. Correlations between Hb, vitamin B12 intake, fecal biomarkers of intestinal inflammation, and pathogen load were analyzed. The prevalence of anemia decreased over the studied times, from 47.5% at month 7 to 40.2% at month 15 and 26% at month 24 (Chi-square, $p=0.002$). Children with anemia had lower z scores for WAZ and HAZ at month 7 (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$); however, at month 15, children with anemia had higher z scores for WAZ and WHZ (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). Protozoa burden and total pathogen burden also decreased over the periods studied (Dunn's Post Test, $p=0.000$). Vitamin B12 intake was significantly lower in children with anemia at month 15 (Mann-Whitney, $p=0.014$). Hb was negatively correlated with MPO (Spearman, $r_s = -0.190$, $p=0.046$) at month seven (7) and positively correlated with vitamin B12 intake (Spearman, $r_s=0.260$, $p=0.003$) at month 15. Logistic regressions showed that

male children had a higher risk for iron deficiency anemia (OR=4.57; 95% CI = 1.42 - 14.72), as well as children with higher anthropometric indicator WAZ had a higher risk for anemia (OR=1.32; 95% CI = 1.02 - 1.69). Anemia was shown to be associated with higher weight-related anthropometric indicators, with worse dietary intake of vitamin B12, and with a worse biomarker of intestinal inflammation MPO. However, anemia did not show an association with pathogen burden, although both decreased across time periods. Male gender was shown to be an important risk factor for iron deficiency anemia in the children studied. The results suggest that nutritional status, food intake, and intestinal inflammation are important factors related to anemia.

Keywords: Cohort Study. Anemia. Second Year of Life. Complementary Feeding. Intestinal Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Prevalência de anemia em crianças entre 6 e 59 meses (%)	20
Figura 2	Modelo conceitual de etiologia da anemia.	22
Figura 3	Locais do estudo de coorte MAL-ED – Etiologia, fatores de risco e interações de infecções entéricas e desnutrição e consequências para a saúde e desenvolvimento infantil	23
Figura 4	Fatores relacionados na etiologia da anemia através do biomarcador hemoglobina na coorte MAL-ED, Brasil.	24
Figura 5	Morfologia da barreira epitelial gastrointestinal.	40
Figura 6	Modelo atualizado para diferenciação dos tipos de células epiteliais intestinais.	41
Figura 7	Modelo conceitual das associações entre patógenos, marcadores de função e inflamação intestinal, inflamação sistêmica e crescimento na coorte MAL-ED, Brasil.	47
Figura 8	Fluxograma da população do estudo de coorte MAL-ED, Brasil.	54
Figura 9	Critérios de diagnóstico de Anemia e Anemia Ferropriva utilizados na coorte MAL-ED, Brasil.	55
Figura 10	Fluxograma da metodologia da avaliação do consumo alimentar habitual pelo <i>Multiple Source Method</i> (MSM).	58
Figura 11	Principais resultados encontrados no estudo em relação a hemoglobina, anemia e anemia ferropriva nos três períodos estudados, 7 ^o , 15 ^o e 24 ^o mês.	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Pontos de corte determinados pela OMS na antropometria de crianças menores de 5 anos de idade	38
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização das crianças estudadas, segundo sexo, aleitamento materno, peso ao nascer, variáveis socioeconômicas, parâmetros de anemia, inflamação e carga de patógenos do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida	63
Tabela 2 – Anemia em crianças do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida	65
Tabela 3 – Caracterização das crianças estudadas, segundo anemia e antropometria do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida	66
Tabela 4 – Ingestão de nutrientes da alimentação complementar e prevalência de anemia e anemia ferropriva em de crianças (n = 132) do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil, no 15 º mês de vida.	67
Tabela 5 – Ingestão de nutrientes da alimentação complementar e prevalência de anemia e anemia ferropriva em de crianças (n = 127) do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil, no 24 º mês de vida	68
Tabela 6 – Correlações de Spearman (rs) entre as variáveis de parâmetros de Hemoglobina, Vitamina B12, Inflamação intestinal, e Carga Total de patógenos nos grupos estudados.	69
Tabela 7 – Modelos de Regressão Logística para anemia, anemia Ferropriva, inflamação intestinal e antropometria em crianças (n = 254) do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil, no 15 º e 24 º mês de vida	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPs	Proteínas de fase aguda positiva (do inglês, <i>positive acute phase proteins</i>)
AG	Adenina/guanina
AGP	alfa-1-glicoproteína ácida
BDNF	Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (do inglês, <i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>)
BRINDA	<i>Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia</i>
Cq	Ciclos de quantificação
Ct	Limite de ciclo
EDTA	(do inglês, <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid Tetrasodium Salt</i>)
EE	Enteropatia ambiental (do inglês, <i>environmental enteropathy</i>)
GRC	(do inglês, <i>Guidelines Review Committee</i>)
HAZ	Comprimento para idade (do inglês, <i>height for age</i>)
Hb	Hemoglobina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, <i>human immunodeficiency virus</i>)
holo-Tc	Holotranscobalamina
IL	Interleucina
LPS	Lipopolissacarídeo
MMA	ácido metilmalônico
MAL-ED	Etiologia, Fatores de Risco e Interações de Infecções Entéricas e Desnutrição e as Consequências para a Saúde Infantil e Desenvolvimento (do inglês, <i>Etiology, Risk Factors and Interactions of Enteric Infections and Malnutrition and the Consequences for Child Health and Development</i>)
MPO	Mieloperoxidase
MS	Ministério da Saúde
MSN	Método de Fontes múltiplas (do inglês, <i>Multiple Source Method</i>)
NEO	Neopterina
ONU/NU	Organização das Nações Unidas (do inglês, <i>United Nations Organization or United Nations</i>)
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SES	<i>Status</i> socioeconômico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância (do inglês, <i>United Nations</i>)

Children's Fund)

WAMI	Acesso a água, escolaridade materna, bens domésticos e renda mensal (do inglês, <i>Water, Assets, Maternal education and household Income</i>)
WAZ	Peso para idade (do inglês, <i>weight for age</i>)
WHO	Organização Mundial da Saúde (do inglês, <i>World Health Organization</i>)
WHZ	peso para comprimento (do inglês, <i>weight for height</i>)
α -1-AT	Alfa-1-Antitripsina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	Anemia.....	19
1.1.1	Conceito da anemia.....	19
1.1.2	Prevalência da anemia.....	19
1.1.3	Etiologia, causas e consequências da anemia.....	21
1.1.4	Diagnóstico da anemia.....	25
1.1.5	Anemias mais comuns.....	26
1.1.5.1	<i>Anemia ferropriva.....</i>	27
1.1.5.1.1	<i>Conceito e etiologia da anemia ferropriva.....</i>	27
1.1.5.1.2	<i>Prevalência da anemia ferropriva.....</i>	28
1.1.5.1.3	<i>Causas e Consequências da anemia ferropriva.....</i>	28
1.1.5.1.4	<i>Diagnóstico da anemia ferropriva.....</i>	29
1.1.5.2	<i>Anemia por deficiência de vitamina B12.....</i>	31
1.1.5.2.1	<i>Conceito e etiologia da anemia por deficiência de vitamina B12....</i>	31
1.1.5.2.2	<i>Prevalência da anemia por deficiência de vitamina B12.....</i>	32
1.1.5.2.3	<i>Causas e Consequências da anemia por deficiência de vitamina B12.....</i>	33
1.1.5.2.4	<i>Diagnóstico da anemia por deficiência de vitamina B12.....</i>	34
1.2	Alimentação complementar e anemia nos dois primeiros anos de vida.....	35
1.3	Índices Antropométricos nos primeiros dois anos de vida.....	37
1.4	Barreira Morfofuncional Gastrointestinal.....	39
1.4.1	Morfologia e imunidade da barreira gastrointestinal.....	39
1.4.2	Inflamação intestinal e biomarcadores.....	43
1.4.3	Inflamação intestinal e carga de patógenos.....	45
1.4.4	Inflamação Intestinal e ingestão de alimentos fortificados com ferro.....	48
1.5	Justificativa.....	51
2	HIPÓTESES.....	51
3	OBJETIVOS.....	52
3.1	Objetivo Geral.....	52
3.2	Objetivos Específicos.....	52

4	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1	Aspectos éticos.....	53
4.2	Tipo, população e local de estudo	54
4.3	Coleta de dados.....	54
4.3.1	<i>Dados bioquímico para definição de anemia.....</i>	54
4.3.2	<i>Avaliação da ingestão de nutrientes da alimentação complementar</i>	55
4.3.3	<i>Aleitamento Materno e Status Socioeconômico.....</i>	58
4.3.4	<i>Índices antropométricos nos dois primeiros anos de vida</i>	59
4.3.5	<i>Carga de patógenos</i>	59
4.3.6	<i>Biomarcadores de Inflamação Intestinal.....</i>	60
4.4	Análise dos dados.....	61
5	RESULTADOS.....	62
6	DISCUSSÃO.....	71
7	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS	81
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ETICA.....	103
	ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA.....	104

1 INTRODUÇÃO

1.1 Anemia

1.1.1 Conceito da anemia

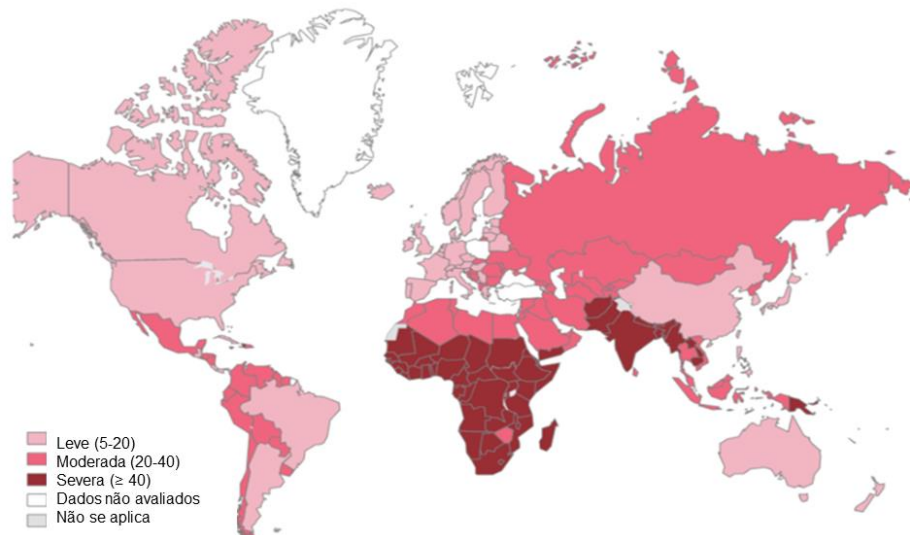
A Organização Mundial de Saúde (OMS) conceitua a anemia como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do normal (WHO, 2008). É uma condição patológica em que ocorre diminuição da massa de hemoglobina e da massa eritrocitária (DE SANTIS, 2019) tendo como característica uma menor capacidade de transporte de oxigênio aos tecidos (WHO, 2008; ALLALI, et al., 2017).

A anemia é o distúrbio hematológico mais prevalente em crianças (BELACHEW; TEWABE, 2020), sendo um problema generalizado em pediatria e sua avaliação é considerada parte de cuidados padronizados para crianças (KHAN, 2018; ALEMAYEHU, et al., 2019).

1.1.2 Prevalência da anemia

Em todo o mundo, a prevalência de anemia é alta (MARTON; AGOCS; BABIK, 2020), especialmente nos países em desenvolvimento (WALKER et al., 2011). A prevalência global de anemia na última década foi de 32,9%, sendo 29% em mulheres grávidas, 38% em mulheres não grávidas, 43% em crianças e atingiu mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo (STEVENS et al., 2013; KASSEBAUM et al, 2014). Dados atuais mostram que na maioria dos países a anemia severa tem diminuído (STEVENS et al., 2022) (**FIGURA 1**).

Figura 1 – Prevalência de anemia em crianças entre 6 e 59 meses no mundo (%).



Fonte: Organização Mundial de Saúde (2019).

Em 2019, a anemia atingiu 39,8% das crianças menores de 5 anos em todo do planeta. Atualmente, a estimativa é de que houve um acréscimo, embora pequeno, nos últimos 2 anos 42% das crianças com menos de 5 anos com anemia no mundo (WHO, 2021), sendo que em países em desenvolvimento esse percentual pode atingir 67,6% das crianças dessa mesma faixa etária (ABDULLAH et al., 2020).

Em um contexto global, a deficiência de micronutrientes vem diminuindo desde o início da década de 90 (HAN; LU; LI, 2022). Contudo a anemia, que também é considerada um tipo de má nutrição relacionada a micronutrientes, é o distúrbio relacionado a deficiência de micronutrientes mais comum do mundo (WHO, 2017).

A OMS cita a anemia como um indicador de pobreza nutricional e de saúde que compromete a qualidade de vida e colabora para a mortalidade infantil. Em nível populacional, uma prevalência de anemia superior a 4,9% já é significativa para a saúde pública e uma prevalência maior que 40% indica a anemia como um grave problema de saúde pública (WHO, 2008).

No Brasil, a prevalência de anemia é de 10,1%, é maior nas crianças com idade entre 6 e 23 meses (19,0%), quando comparada às crianças entre 24 e 59 meses de vida (5,6%) e é predominante em crianças do sexo masculino (10,5%) em

comparação ao sexo feminino (9,6%). Na região nordeste do Brasil, a prevalência de anemia em crianças entre 6 e 23 meses é de 18,8% (ENANI, 2019).

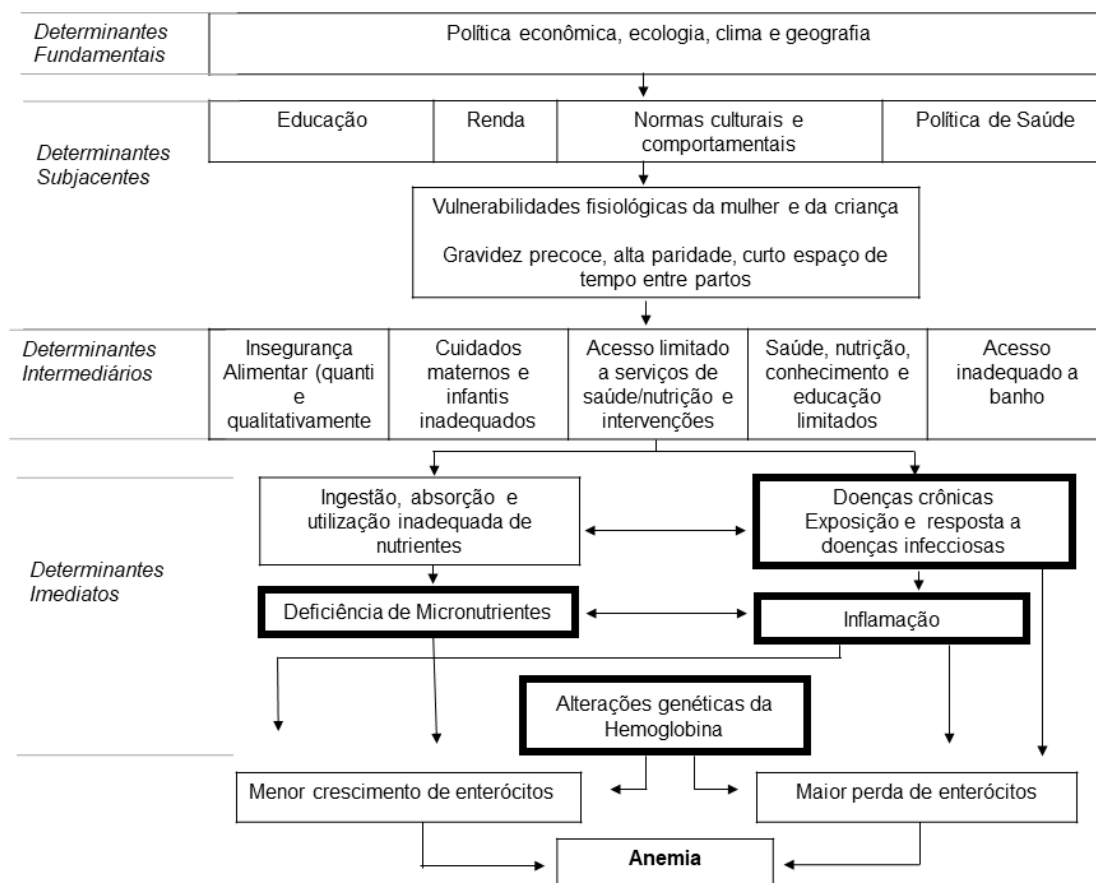
A OMS e a Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF, do inglês *United Nations Children's Fund*) estão propondo alianças internacionais através da *Alliance for Anemia Actions* com o objetivo de atuar no interesse da saúde pública e contribuir significativamente no trabalho ativo relacionado à prevenção ou manejo da anemia no mundo (WHO, 2022). A melhorar a nutrição materna e infantil é uma das seis Metas Globais da Assembleia Mundial da Saúde para 2025 através da redução da prevalência de anemia para 50% (WHO, 2014).

1.1.3 Etiologia, causas e consequências da anemia

A etiologia da anemia pode ser atribuída a distintos fatores e é variável em termos de idade, sexo e distribuição geográfica (MARTON; AGOCS; BABIK, 2020). A etiologia da anemia permeia desde determinantes sociais, climáticos e geográficos, até fatores mais imediatos como exposição a doenças infecciosas, inflamação e deficiência de ingestão de micronutrientes (BALARAJAN, 2011; PASRICHA et al., 2013, NAMASTE, et al., 2017). A anemia por deficiência de ingestão micronutrientes está relacionada a um ou mais nutrientes essenciais podendo ser causadas por deficiência de nutrientes como ferro, zinco, vitamina B12 e proteínas (WHO, 2008).

Em relação às causas da anemia, existem fatores inter-relacionados. Sabe-se que fatores distais como renda e escolaridade podem contribuir para os determinantes mais próximos como insegurança alimentar, ausência de água potável e de saneamento básico. Em última análise, as deficiências nutricionais, doenças, inflamação e hemoglobina abaixo do normal podem contribuir também para as causas mais imediatas da anemia (**FIGURA 2**) (BALARAJAN, 2011; PASRICHA et al., 2013; NAMASTE et al., 2017).

Figura 2 – Modelo Conceitual de etiologia da anemia. Determinantes delineados com bordas mais espessas são considerados os principais contribuintes para anemia em todo mundo.



Fonte: Adaptado de BALARAJAN (2011); PASRICHA et al., (2013); NAMASTE et al., (2017).

Segundo a OMS, as causas mais comuns de anemia incluem: deficiências nutricionais como a deficiência de ferro, folato, vitaminas B12 e vitamina A; hemoglobinopatias e doenças infecciosas, como malária, tuberculose, HIV e infecções parasitárias (WHO, 2019).

Pesquisas populacionais em crianças em idade pré-escolar em países africanos o projeto *Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia* (BRINDA) identificou preditores mais consistentes de anemia grave como a malária, a falta de saneamento, o baixo peso, inflamação, nanismo, deficiência de

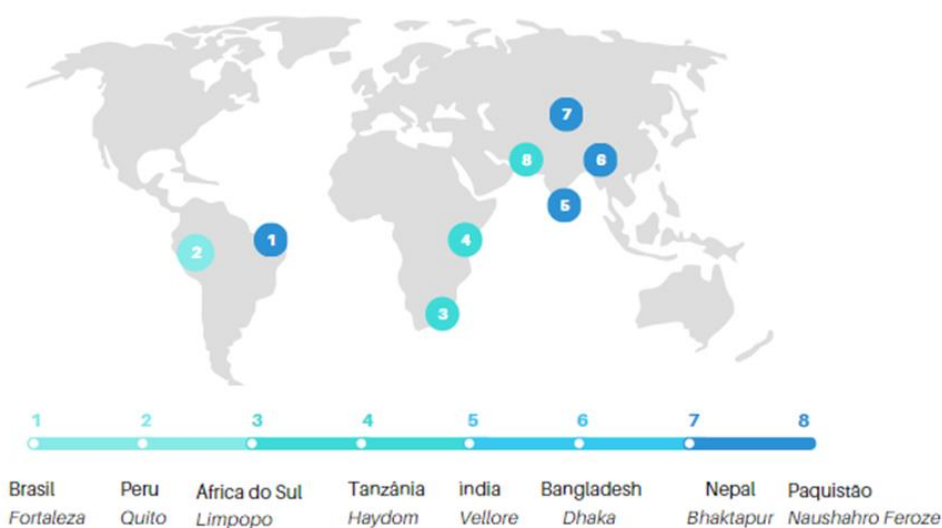
vitamina A e vitamina B12, localização rural, infecção por parasitas intestinais e infecção por HIV (ENGLE-STONE, 2020).

Estudos locais de abordagem transversal em distintas regiões do Brasil identificaram que renda, condições de saneamento básico, idade materna e baixo consumo de carne e vísceras estavam associados à anemia (RODRIGUES et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2014; MAGALHÃES et al., 2018).

O estudo de coorte multicêntrico, Etiologia, Fatores de Risco e Interações de Infecções Entéricas e Desnutrição e as Consequências para a Saúde Infantil e Desenvolvimento (MAL-ED) (**FIGURA 3**), uma coorte de nascimentos em 8 países de baixa ou média renda, visa melhorar a compreensão científica das complexas relações entre ecologia microbiana intestinal, infecção por enteropatógenos, ingestão alimentar, estado nutricional, fisiologia intestinal, crescimento, função imunológica e resposta à vacina e desenvolvimento cognitivo (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2014).

Figura 3 – Locais do estudo de coorte MAL-ED – Etiologia, fatores de risco e interações de infecções entéricas e desnutrição e consequências para a saúde e desenvolvimento infantil.

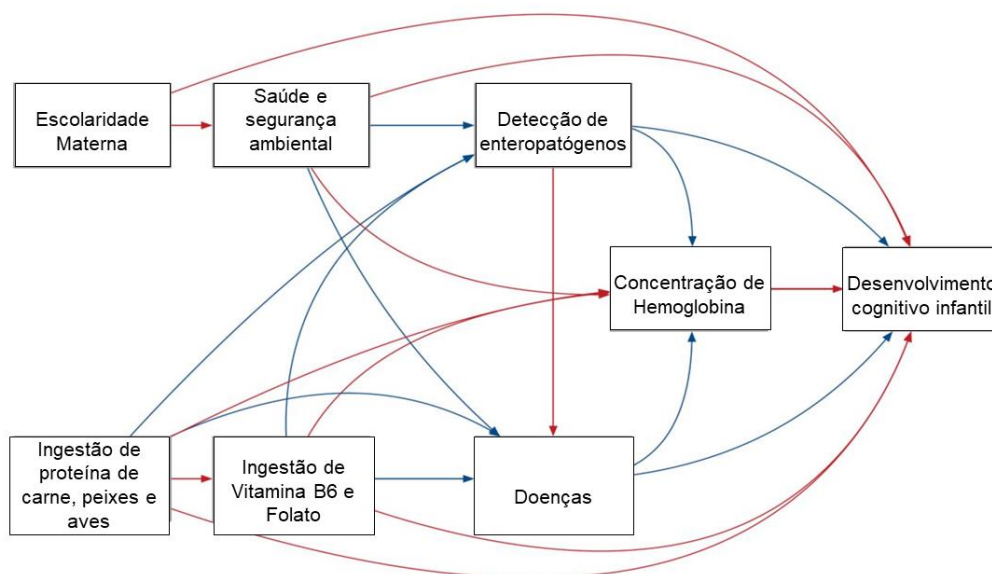
ETIOLOGIA, FATORES DE RISCO E INTERAÇÕES DE INFECÇÕES ENTÉRICAS E DESNUTRIÇÃO E CONSEQUÊNCIAS PARA A SAÚDE E DESENVOLVIMENTO INFANTIL (MAL-ED)



Fonte: MAL-ED Network Investigators (2014).

O MAL-ED tem contribuído para o entendimento sobre fatores relacionados na etiologia da anemia através do biomarcador hemoglobina, bem como tem estudado as consequências clínicas no desenvolvimento infantil (**FIGURA 4**) (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2018).

Figura 4 – Fatores relacionados na etiologia da anemia através do biomarcador hemoglobina- MAL-ED- Modelo de análise de caminho testado com relações diretas hipotéticas entre variáveis (Setas azuis indicam associações negativas e setas vermelhas indicam associações positivas).



Fonte: MAL-ED Network Investigators (2018).

Entender a ampla e complexa etiologia da anemia é fundamental para conduzir intervenções eficazes que contemplem as causas específicas (CHAPARRO; SUCHDEV, 2019). Necessita-se de um melhor entendimento sobre as possíveis causas de anemia bem como maiores discussões sobre implementação de ações multissetoriais eficazes para lidar com essas causas (STEVENS et al., 2022).

As consequências da anemia contribuem para o aumento da morbidade e mortalidade, menor produção no trabalho, maior comprometimento no desenvolvimento neurológico (CHAPARRO; SUCHDEV, 2019) sendo a anemia responsável por 8,8% de anos vividos com incapacidade física funcional (STEVENS et al., 2013). A anemia tem uma significativa contribuição para a carga global de doenças (PASRICHA, 2014; PASRICHA et al., 2021) e está relacionada com a baixa produtividade em adultos, o que contribui para a transmissão intergeracional da pobreza com sérias implicações para o desenvolvimento de um país (GRANTHAM

MCGREGOR et al., 2001; WALKER et al., 2011; ENGLE et al., 2020) necessitando de atenção e recursos para as repercussões desse problema (ENGLE et al., 2020).

Há uma indicação consistente de estudos longitudinais que crianças com anemia persistem em ter cognição e desempenho escolar deficitários como também problemas comportamentais durante a infância, desatenção social e diminuição da atividade motora (GRANTHAM-MCGREGOR, 2001; STEVENS et al., 2022). Outras consequências também são relatadas na literatura como a fragilidade óssea (WONKE, 1998), aumento do fígado e do baço devido a hematopoiese extramedular (BARRIER, 2015), aumento do risco de acidente vascular cerebral (DEBAUN, 2016), taquicardia e aumento do diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo repercutindo em disfunção cardíaca a longo prazo (ADJAGBA et al., 2017).

Assim, considerando que o comprometimento no crescimento e a anemia são comuns em países de baixa e média renda e que provavelmente seja devido, em parte, à coexistência de deficiências de vários micronutrientes (BLACK et al., 2013), as anemias por deficiência de micronutrientes continuam sendo um problema de saúde pública global e coexistem com outros déficits nutricionais como a desnutrição calórica proteica o que repercute no agravamento da anemia (BRASIL, 2015; WHO, 2021). No Brasil a deficiência de micronutrientes ainda é prevalente, tendo em destaque a prevalência de deficiência de vitamina B12, vitamina D, vitamina A e ferro (ENANI, 2019).

1.1.4 Diagnóstico da anemia

Devido as repercussões negativas, o diagnóstico precoce da anemia faz-se necessário. Nesse contexto, valor de hemoglobina é o método de avaliação hematológica mais indicado e o parâmetro mais comum utilizado na definição de anemia na prática clínica (CHAPARRO; SUCHDEV, 2019). No entanto, esta informação não determina a patologia subjacente causadora do estado anêmico (NEWHALL; OLIVER; LUGTHART, 2020).

Pode-se considerar como anemia quando o valores de hemoglobina no sangue total está abaixo de 85% da média para uma faixa etária apropriada da população (HENRIQUES; COZZOLINO, 2012). Assim, determinar limiares de Hb adequados para definir a anemia é fundamental para garantir que a mesma seja

pontualmente identificada e seus efeitos negativos evitados (CHAPARRO; SUCHDEV,2019).

Os valores de corte para diagnóstico de anemia variam amplamente com a idade e as crianças, especialmente, estão em maior risco, sendo a deficiência de ferro a causa mais frequente (STEVENS et al., 2013). O diagnóstico padrão e universalmente utilizado é conforme a OMS, que determina bioquimicamente a anemia em crianças menores de 5 anos que apresentam hemoglobina (Hb) <110g/L ou <11 mg/dL (WHO, 2011).

Além de valores da hemoglobina, o volume celular médio (VCM) pode ser utilizado para categorizar anemia e, portanto, orientar as investigações subseqüentes. O femtolitro (fL) é a unidade de medida do VCM. De acordo o VCM, a anemia pode ser categorizada conforme a seguinte classificação: anemia microcítica: VCM < 80 fL; anemia normocítica: MCV 80-95 fL; anemia macrocítica: VCM > 95 fL (NEWHALL; OLIVER;LUGTHART, 2020).

O diagnóstico correto de anemia é fundamental para compreender a carga e a epidemiologia desse problema e conseqüentemente necessário para o planejamento de intervenções de saúde pública (GARCIA-CASAL; PASRICAB, 2019; WHO, 2022).

1.1.5 Anemias mais comuns

A anemia pode ser dividida em três categorias quanto à quantidade de glóbulos vermelhos: 1) diminuição da produção de glóbulos vermelhos; 2) aumento da destruição de glóbulos vermelhos; 3) perda de glóbulos vermelhos por sangramento. Contudo a anemia é multifatorial e pode apresentar-se como manifestação de alguma situação clínica subjacente (NEWHALL; OLIVER;LUGTHART, 2020).

Aproximadamente metade dos casos de anemia são consequência da deficiência de ferro (WHO, 2020), já as demais causas podem estar relacionadas à outras deficiências nutricionais como o ácido fólico, vitamina B12 ou vitamina A bem como pode estar relacionada a presença de inflamação crônica, infecções parasitárias e doenças hereditárias (WHO, 2011).

Nesse contexto, considerando que: 1) a deficiência de ferro é a principal causa de anemia em crianças brasileiras menores de dois anos (ENANI,2019) ; 2) a deficiência de vitamina B12 é subclínica em crianças em insegurança alimentar

(SHENG et al., 2019; GREEN; MILLER, 2022) e que pode evoluir rapidamente para uma anemia severa devido as baixas reservas hepáticas em crianças menores de dois anos (SILVA et al.,2019). Assim, o presente estudo deu ênfase em abordar e discutir não somente a anemia em sua abrangência geral, mas também a anemia ferropriva e a anemia por deficiência de vitamina B12.

1.1.5.1 Anemia Ferropriva

1.1.5.1.1 Conceito e etiologia da anemia ferropriva

A anemia ferropriva é uma urgência pediátrica sendo definida pela deficiência de ferro e é a forma mais comum de anemia microcítica, que se caracteriza por eritrócitos menores que o normal (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2018).

A deficiência de ferro no organismo acontece de forma progressiva gradual e dá-se entre a ingestão e armazenamento de ferro, bem como entre perda de ferro do corpo e a produção de eritrócitos (BEARD; DAWSON; PIÑERO, 1996). O desequilíbrio do ferro corporal permeia três estágios até instalar-se, são eles: depleção dos estoques de ferro, eritropoiese deficiente em ferro e, o último estágio, anemia ferropriva. Caracteriza-se pela diminuição dos níveis de hemoglobina, com danos funcionais ao organismo, onde a gravidade dos prejuízos são proporcionais quanto maior for essa redução (COOK; BAYNES; SKIKNE, 1992; BEARD; DAWSON; PIÑERO, 1996).

O *status* de ferro deve ser adequado para contribuir com a hematopoiese, o desenvolvimento neurológico bem como a função imune. A análise confiável do *status* de ferro é peculiarmente necessária em locais com elevada carga de doenças infecciosas (SUCHDEV et al., 2016).

O ferro no organismo em termos quantitativos está prevalentemente na hemoglobina, aproximadamente dois terços (HENRIQUES; COZZOLINO, 2012). O restante do ferro corporal compõe enzimas, proteínas e é estocado como ferritina e hemossiderina. O ferro utilizado pelo corpo humano é adquirido através da dieta e por meio da reciclagem de hemácias senescentes (NAIRZ; WEISS, 2006).

1.1.5.1.2 Prevalência da anemia ferropriva

No início do século XXI, mais de 2 milhões de crianças no mundo na idade pré-escolar já se encontravam em risco de deficiência em ferro, com repercussões negativas no desenvolvimento mental, apatia, irritabilidade e redução da capacidade de concentração e do aprendizado (WHO, 2000). Mundialmente, a anemia ferropriva é considerada a carência nutricional de maior dimensão, com alta prevalência em todas as frações sociais (WHO, 2020) e é considerada o quinto distúrbio mais comum, de acordo com o estudo chamado "Carga global de doenças" (MARTON; AGOCS; BABIK, 2020).

Atualmente no Brasil a anemia ferropriva é um grave problema de saúde pública, com prevalência de 3,5%, podendo chegar a 7,2 % na região nordeste do país em crianças entre 6 e 23 meses de vida (ENANI, 2019).

1.1.5.1.3 Causas e consequências da anemia ferropriva

As causas mais comuns de anemia microcítica são deficiência de ferro e talassemia, que é uma desordem sanguínea hereditária com redução dos níveis de hemoglobina (KUJOVICH, 2016).

A deficiência de ferro é comum durante os dois primeiros anos de vida e tem como causa primária, o ferro biodisponível insuficiente (absorvível) para altas demandas de crescimento (WORTHINGTON et al., 2001). O ferro é um mineral fundamental para a homeostase das células e a deficiência está relacionada com comprometimento da síntese de hemoglobina, repercutindo na redução da oxigenação dos tecidos (WEISS; GOODNOUGH, 2005). A preocupação com a carência de ferro no início da vida existe mesmo em recém-nascidos a termo e com peso ao nascer normal, que têm estoques ideais de ferro até o sexto mês de vida (WHO, 2017).

As consequências da anemia ferropriva em crianças menores de dois anos podem ser irreversíveis no desenvolvimento cerebral, repercutindo negativamente na aprendizagem e no desempenho escolar (OMS, 2020). Há também aumento da predisposição a cáries dentárias, menor especificação e identificação de cheiros, alterações no paladar e apetite, com associação a quadros de picamálacia (JORDÃO;

BERNARDI; BARROS FILHO, 2009; KAHN et al., 2011; FELT et al., 2012; SCHROTH et al., 2013; DINC et al., 2016).

. A deficiência de ferro está associada ao aumento risco de morbidade grave, atingindo o desenvolvimento motor e cognitivo, podendo comprometer a mielinização, alterando a função do receptor de neurotransmissores (particularmente dopamina) e metabolismo neuronal (WORTHINGTON et al., 2001).

Em fase mais avançada, a anemia ferropriva está associada a sintomas clínicos como fraqueza, diminuição da capacidade respiratória e vertigem. A anemia ferropriva pode refletir em uma reduzida capacidade de trabalho físico, além de ser uma medida consistente do grau de desnutrição crônica e de seus efeitos. Há também reflexos da anemia no sistema imune como na redução acentuada do percentual de linfócitos T (WHO, 2000).

1.1.5.1.4 Diagnóstico da anemia ferropriva

Nesse contexto o diagnóstico de anemia por deficiência de ferro em crianças menores que cinco anos, segundo a OMS, dá-se por Hb <11g/dL e ferritina < 12 µg/L na ausência de infecção, bem como por hemoglobina < 11g/dL e ferritina < 30 µg/L na presença de infecção (WHO, 2011; WANG et al., 2016).

Os principais indicadores de estado de ferro são: hemoglobina, ferritina sérica (SF) e o receptor de transferrina sérica (s-TfR) (WHO/CDC, 2004; WHO, 2005). A transferrina é uma glicoproteína (β -globulina), responsável pela absorção e transporte do ferro na forma Fe^{3+} (férica) e regula a taxa de liberação de ferro das células da mucosa para a circulação. Na anemia ferropriva as concentrações dessa glicoproteína aumentam e após a correção da anemia seus valores são os últimos a retornarem aos parâmetros de normalidade. O percentual de saturação de transferrina mensura o suprimento de ferro nos tecidos, mas não é válido em situações quando os estoques de ferro diminuem e quando a ingestão dietética do mineral está deficiente (MARTINS, 2008).

A ferritina é a forma primária de armazenamento do ferro no corpo, na forma de Fe^{2+} (ferrosa). Concentrações baixas de ferritina sugerem anemia por deficiência de ferro ou depleção protéica grave. Já as concentrações elevadas podem indicar excesso de ferro, como na hemocromatose ou podem sugerir uma condição

inflamatória, conduzindo assim a possíveis vieses de interpretação (MARTINS, 2008).

A inflamação compromete biomarcadores usados para avaliar o estado de micronutrientes, entre eles a ferritina podendo refletir em uma deficiência de ferro subestimada (GRANTHAM-MCGREGOR; ANI, 2001; AYOYA et al., 2010) e conseqüentemente ao diagnóstico incorreto (HAMZA; HAMED; KHARSHOUM, 2013; THURNHAM, 2015; SUCHDEV et al, 2016).

Assim, é necessário quantificar biomarcadores de inflamação em pesquisas de prevalência do estado nutricional em indivíduos aparentemente saudáveis. Os biomarcadores de inflamação mais comuns utilizados na prática clínica são as citocinas e as proteínas de fase aguda positiva (APPs), entre elas α 1-glicoproteína ácida (AGP) e a Proteína C reativa (CRP) (AYOYA et al., 2010; THURNHAM; MCCABE, 2014).

Nesse contexto, reconhecendo este desafio nas pesquisas, a OMS e o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) recomendam a medição de marcadores inflamatórios para avaliação do estado de ferro para excluir da análise indivíduos com inflamação. Os indicadores de estado de ferro e inflamação inseridos nessa inclusão são: hemoglobina, ferritina sérica (SF), receptor de transferrina sérica (s-TfR), α 1-glicoproteína ácida (AGP) e/ou Proteína C reativa (CRP) (WHO/CDC, 2004; WHO, 2005).

A Proteína-C reativa e a AGP são marcadores inflamatórios que se correlacionam positivamente com a ferritina e negativamente com a hemoglobina. A prevalência da deficiência de ferro com o uso exclusivo de ferritina sérica seria subestimada consideravelmente bem como a prevalência de anemia com o uso único de hemoglobina seria superestimada caso a inflamação não fosse considerada (NESTEL, 2002; SUCHDEV, et al, 2016).

A AGP é uma proteína hepática de fase aguda positiva que apresenta valores alterados em até 24 horas após o início da inflamação, contudo os valores podem permanecer elevados até a convalescença. A AGP atinge sua concentração máxima 48 h após o início dos processos inflamatórios e permanece elevada por 120 a 144 h. Assim, a AGP pode ser detectada nas semanas após a infecção aguda, bem como suas concentrações podem estar elevadas na inflamação crônica de baixo grau (CECILIANI;LECHI, 2019).

Na medida em que são disponibilizadas nas análises, as proteínas de fase aguda podem ser úteis para fins de comparação sobre a prevalência de anemia entre populações ou dentro de uma população ao longo do tempo (SULLIVAN et al.,2012). Assim, uma análise adicional combinada da presença destes marcadores de inflamação pode auxiliar no diagnóstico diferencial (WHO,2011).

Segundo a OMS, a oferta de ferro adicional para lactentes e crianças pequenas até o 23º mês deve ser uma prioridade na saúde pública, considerando que a anemia por deficiência de ferro é comum nestas crianças e pode repercutir na saúde e no desenvolvimento em longo prazo (WHO,2007).

Entre as estratégias de controle da anemia ferropriva, estão: controle de doenças parasitárias e infecções prevalentes, promoção do aleitamento materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida e o consumo de alimentos ricos em nutrientes e/ou alimentos complementares fortificados (WHO,2004).

1.1.5.2 Anemia por deficiência de vitamina B12

A vitamina B12 é uma vitamina hidrossolúvel, sintetizada pela microbiota intestinal (CHITTARANJAN, 2020; WAN et al., 2022). É uma molécula orgânica complexa, possui um elemento traço essencial, o cobalto e pode ser encontrada sob diversas formas como metilcobalamina, hidroxicobalamina, aquacobalamina, cianocobalamina e deoxiadenosilcobalamina. No contexto químico, o termo vitamina B12 refere-se à hidroxicobalamina e à cianocobalamina (WANG, 2016; KHAN, 2018; JEREMIAS et al., 2023; PARDO-CABELLO; MANZANO-GAMERO; PUCHE-CAÑAS, 2023). O tratamento da hipovitaminose B12 é a administração por via oral ou intramuscular da vitamina B12 na forma de hidroxicobalamina (JEREMIAS et al., 2023).

1.1.5.2.1 Conceito e etiologia da anemia por deficiência de vitamina B12

Trata-se de um déficit nutricional que se caracteriza pelo comprometimento da função das células vermelhas do sangue e repercute a uma anemia macrocítica (MARTINS, 2008; STABLER, 2013; SOCHA et al., 2020) que pode resultar de uma elevada demanda do nutriente, como também de um estágio de deficiência nutricional estabelecido após o esgotamento das reservas orgânicas. A vitamina B12 atua na formação e manutenção das hemácias e atividades do sistema nervoso (SILVA et al., 2019).

A vitamina B12 exerce funções essenciais no papel de coenzima e de cofator, participando de reações importantes, como estas: a isomerização da metilmalonilCoA à succinilCoA, a conversão da homocisteína em metionina e a conversão do ácido fólico à sua forma ativa (MARTINS, 2008; MAFRA; COZZOLINO, 2012).

A vitamina B12, associada ao metabolismo do folato, também participa de alterações epigenéticas durante a infância (HUNT, HARRINGTON, 2014; SANTOS; BRITO; PEREIRA, 2016) nas reações de metilação e síntese de ácidos nucleicos através da enzima metionina sintase (MAFRA; COZZOLINO, 2012).

Além de essencial para a formação de hemácias, a vitamina B12 é importante para estimular do Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF) responsável pela neuroplasticidade neural (SANTOS; BRITO; PEREIRA, 2016). O BDNF está envolvido no desenvolvimento e mielinização do sistema nervoso central, e na manutenção de sua função normal (STABLER, 2013).

1.1.5.2.2 Prevalência da anemia por deficiência de vitamina B12

A anemia por deficiência de vitamina B12 é comum (CHANDRA et al., 2022) e pode ser superior que a anemia por deficiência de ferro e folato em crianças com desnutrição aguda e grave (YAIKHOMBA; POSWAL; GOYAL, 2015).

Prevalentemente a deficiência de vitamina B12 é subclínica e alcança entre 2,5% e 26% da população geral, podendo atingir indivíduos de todas as idades. A deficiência de vitamina B12 é amplamente distribuída em todas as faixas etárias, principalmente onde ocorre insegurança alimentar. Crianças menores de dois anos, outros grupos como os idosos, adolescentes e mulheres em idade reprodutiva tem alto risco de deficiência por estarem inclusos em populações onde a ingestão dietética de alimentos derivados de animais contendo B12 ainda é deficiente (GREEN; MILLER, 2022).

A literatura cita que na prática clínica a deficiência de B12 pode ser negligenciada ou mal diagnosticada devido a equívocos e crenças errôneas entre os profissionais de saúde como estes: o nível sérico de vitamina B12 é apenas moderadamente baixo; deficiência de vitamina B12 ocorre apenas em idosos; a deficiência de vitamina B12 nunca ocorre em crianças (WOLFFENBUTTEL et al., 2019).

Estudos transversais em países de baixa e média renda têm relatado a deficiência de vitamina B12 em crianças nos primeiros anos de vida como consequência de um menor consumo dietético, o que tem refletido em parâmetros bioquímicos inferiores aos valores de referência para a idade. Esses estudos citam também os principais sinais de deficiência encontrados em decorrência da hipovitaminose, que são a baixa coloração nos dedos, perda de peso e manifestações neurológicas (NG'ENO et al., 2017; UMASANKER et al., 2020; WONG et al., 2022).

No Brasil a prevalência de deficiência bioquímica de vitamina B12 atinge 14,2% das crianças entre 6 e 59 meses de vida e é mais abrangente na região Norte (28,5%) e menor nas regiões Sul (9,6%), Nordeste (11,7%) e Centro-Oeste (12,0%), sendo mais comum em crianças do sexo masculino (14,5%) quando comparada a crianças do sexo feminino (13,8%). A prevalência de deficiência de vitamina B12 é maior em crianças com idade entre 6 e 23 meses (25,4%) quando comparada a daquelas entre 24 e 59 meses (8,5%), sendo esta diferença estatisticamente significativa (ENANI, 2019).

1.1.5.2.3 Causas e Consequências da anemia por deficiência de vitamina B12

A principal causa de deficiência de vitamina B12 é uma ingestão alimentar inadequada que acontece em diferentes grupos populacionais como crianças, idosos, veganos e indivíduos com elevada ingestão de álcool. Entre outros fatores importantes relacionados a deficiência estão a má absorção de B12, que pode estar relacionada a doenças intestinais (gastrite atrófica, síndrome de má absorção, cirurgia gastrointestinal, inflamação) e a fatores como a ingestão de medicamentos que comprometem a absorção como os antiácidos e hipoglicemiantes orais (GUÉANT-RODRIGUEZ; ALPERS, 2022; JEREMIAS et al., 2023).

As principais fontes alimentares de vitamina B12 são os alimentos de origem animal como produtos lácteos, carne, fígado, peixes, ovos e mariscos. A maior biodisponibilidade da vitamina B12 encontra-se na carne ovina e no frango que pode variar em média 50 a 89%, respectivamente, embora as maiores quantidades de vitamina B12 estejam no fígado bovino e mariscos. A absorção da vitamina B12 pode chegar somente em até 50% da ingestão dietética mesmo quando a função gastrintestinal não está comprometida (HANDS, 2000; HENRIQUE; COZZOLINO, 2012).

Em crianças, os principais reflexos da deficiência de vitamina B12 são: atraso no desenvolvimento; ausência de sorriso, hipotonia (diminuição do tônus muscular), letargia, coma, hiperirritabilidade, convulsões, tremores, mioclonia (espasmos), microcefalia e movimentos coreoatetóides (movimentos em torções das extremidades) (STABLER, 2013; JEREMIAS et al. ,2023).

A deficiência de vitamina B12 também tem sido associada a alterações do desenvolvimento mental e psicomotor durante a infância e em fases mais tardias do desenvolvimento (HUNT, HARRINGTON, 2014; SANTOS; BRITO; PEREIRA, 2016; GUÉANT; GUÉANT-RODRIGUEZ; ALPERS, 2022).

As repercussões clínicas menos comuns associadas à deficiência de vitamina B12 estão a glossite, a má absorção, infertilidade e trombose em locais incomuns, como trombose do seio venoso cerebral (REMACHA et al., 2011). Em alguns casos, a deficiência de vitamina B12 pode ser um fator de risco para doenças cardiovasculares, devido ao comprometimento do ciclo de metilação da homocisteína (PAWLAK, 2015).

A deficiência de vitamina B12 nos cinco primeiros anos de vida é uma causa importante de atraso e regressão do neurodesenvolvimento. A maioria desses casos ocorre em bebês em aleitamento materno prolongado exclusivo por mães com deficiência de vitamina B12 (HASBAOUI et al., 2021). O estado materno de vitamina B12 e o atraso no diagnóstico podem ser importantes fatores que refletem a gravidade e a progressão da deficiência de vitamina B12 em lactentes amamentados nos dois primeiros anos de vida. A associação entre a vitamina B12 plasmática materna e o desenvolvimento cognitivo em crianças até 24 meses de idade sugerem uma possível necessidade de garantir vitamina B12 adequada durante o período gestacional (LAI et al., 2019).

1.1.5.2.4 Diagnóstico da anemia por deficiência de vitamina B12

O diagnóstico laboratorial de deficiência de vitamina B12 não é simples e representa um desafio, devido à ausência de consenso sobre os valores normais de vitamina B12 e seus marcadores (MMA -ácido metilmalônico e holo-Tc - holotranscobalamina) como também devido à falta de especificidade e sensibilidade da análise sérica de vitamina B12 (VAN VLAENDEREN et al., 2021).

Os principais métodos de diagnóstico de anemia por deficiência de vitamina B12 são: a dosagem de ácido metilmalônico, um metabólito que aumenta quando ocorre diminuição de vitamina B12 intracelular; e a dosagem do holo-Tc que representa aproximadamente 10% a 30% da fração circulante de vitamina B12 (LLOYD-WRIGHT et al.,2003). Os valores séricos ideais de vitamina B12 variam entre 200 e 800 pg/ml, embora sabendo que valores ideais estão acima de 500 pg/ml. Em relação à cobalamina sérica trata-se de um teste importante principalmente quando associada ao ácido metilmalônico, pois auxilia a esclarecer as incertezas das deficiências bioquímicas/funcionais subjacentes (DEVALIA; HAMILTON; MOLLOY, 2014).

O holo-Tc é um importante marcador de anemia megaloblástica severa na infância, pois consegue diferenciar a vitamina B12 realmente ativa da vitamina B12 total e é o melhor indicador do balanço negativo de níveis da vitamina no meio intracelular (AFMAN et al., 2001).

O diagnóstico de anemia por deficiência de vitamina B12 também é baseado no volume celular médio (VCM), pois estreita o diagnóstico diferencial e direciona os exames. Uma macrocitose relevante é característica de deficiências de vitamina B12, vitamina B9, uso de alguns medicamentos e comprometimentos primários da medula óssea (KUJOVICH, 2016).

1.2 Alimentação complementar e anemia nos dois primeiros anos de vida

Conforme o Guia Alimentar para Crianças Brasileiras Menores de 2 Anos, a alimentação nos dois primeiros anos de vida visa a promoção do crescimento e desenvolvimento da criança favorecendo sua saúde. O documento consiste em orientar no incentivo ao aleitamento materno, escolher e preparar os alimentos e na orientação no desafio de ofertar esses alimentos à criança (BRASIL, 2019).

Os dois primeiros anos de vida são determinantes para a programação metabólica e para determinação da composição corporal futura da criança (DIPASQUALE; ROMANO, 2020). Nesse período, recomenda-se a oferta de alimentos complementares na dieta a partir do sexto mês considerando que aleitamento materno não atende 100 % das necessidades nutricionais a partir deste período (BRASIL, 2015; LIMA;GONZALEZ, 2018).

Nesse contexto, a alimentação complementar refere-se à introdução de alimentos diferentes do leite na dieta do lactente, paralelamente com a redução gradativa da ingestão de leite (seja leite materno ou fórmula láctea), a fim de que o modelo alimentar da família seja adquirido (DIPASQUALE; ROMANO, 2020).

Além de energia, a alimentação complementar contribui no fornecimento de nutrientes importantes como vitaminas e minerais, entre eles vitaminas A, C, B9, B12 e D, ferro e cálcio, importantes para prevenir o aparecimento de hipovitaminose A, o escorbuto, raquitismo e a anemia (LIMA; GONZALEZ, 2018). Orienta-se que a alimentação complementar não seja introduzida antes do quarto mês de vida como também não seja ofertada somente após 26^o semana (AGOSTONI et al., 2008) e recomenda-se também que deve incluir ferro derivado da carne ou peixe, uma ou duas vezes por semana (PRELL; KOLETZKO, 2016).

A interrupção precoce do aleitamento materno e a oferta de uma alimentação de baixa qualidade e pouco variada podem gerar má nutrição, comprometendo o desenvolvimento infantil, seja através do excesso de peso, seja pela desnutrição, anemia e deficiência de vitamina A (BRASIL, 2019).

A alimentação nos dois primeiros anos de vida é determinante para o estado nutricional da criança a curto e a longo prazo (CAROLI, et al., 2022). Neste período, crianças são vulneráveis às deficiências de vitaminas e minerais, devido à práticas alimentares inadequadas e ao crescimento rápido (PRZYREMBEL, 2012; KOLETZKO et al, 2012; KOLETZKO, et al.,2015; SUCHDEV et al., 2020). Entre essas deficiências está a anemia, associada a atrasos no desenvolvimento cognitivo, social e emocional em curto prazo (WALKER et al., 2011; JEREMIAS, et al.,2023).

Globalmente, a prevalência de anemia entre crianças durante o período de alimentação complementar é alta (JEREMIAS et al., 2023) e crianças com idade entre 4 e 24 meses estão entre os grupos populacionais mais vulneráveis à anemia (ALEMAYEHU et al., 2019; CHEN et al., 2020).

Sabe-se que o aleitamento materno é meio natural e completo de nutrição da criança nos primeiros seis meses de vida devido a sua composição adequada, não somente pelos nutrientes presentes como também pelos componentes imunologicamente ativos com propriedades anti-infecciosas e anti-inflamatórias (AGOSTONI et al., 2009; BÜHRER et al., 2014).

Nesse contexto, a anemia em crianças menores de dois anos é uma das repercussões clínicas mais comuns quando a alimentação complementar não é ofertada de forma adequada (NEVES; SILVA; MORAIS, 2005; BRASIL, 2015). A anemia é multifatorial e embora a deficiência de ferro seja a causa mais comum outras potenciais causas necessitam ser investigadas (ALLALI et al.,2017).

Entre as estratégias de prevenção e controle da anemia preconizadas pelo Ministério da Saúde a partir dos seis meses até dois anos de idade estão o incentivo a alimentação complementar saudável e o estímulo ao consumo ideal de alimentos que contenham ferro com elevada biodisponibilidade na fase de introdução da alimentação complementar (BRASIL, 2013).

Considerando que a anemia pode ter causas relacionadas a deficiências nutricionais como a deficiência de ferro, ácido fólico, vitamina B12 ou vitamina A (WHO, 2011), analisar a ingestão desses nutrientes é importante durante os dois primeiros anos de vida.

Entre as ferramentas utilizadas para mensuração da ingestão de nutrientes da alimentação destacar-se o recordatório alimentar de 24 horas (R24h). O R24h consiste em uma ferramenta que define e quantifica todos os alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas anteriores à entrevista (BUZZARD ,1998). O R24h possibilita a coleta de valores absolutos ou relativos da ingestão de energia e nutrientes amplamente distribuídos no total de alimentos consumidos (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009).

1.3 Índices antropométricos nos primeiros dois anos de vida

Os índices antropométricos são uma combinação entre duas medidas antropométricas, como por exemplo, peso e estatura, ou uma combinação entre uma medida antropométrica e uma medida demográfica, como por exemplo, peso-para-idade (BRASIL, 2011). Esses índices possibilitam uma importante avaliação do estado nutricional de crianças na identificação de mudanças recentes de peso e de alterações no estado nutricional de forma precoce (WHO, 2006).

O acompanhamento do crescimento e o desenvolvimento de crianças são eixos fundamentais sob os aspectos biológico, afetivo, psíquico e social e faz parte das cinco ações prioritárias adotadas pelo Ministério da Saúde do Brasil nos serviços

de saúde na atenção à criança desde 1984. As demais ações de acompanhamento consistem em promoção do aleitamento materno, imunizações, prevenção e controle das doenças diarreicas e das infecções respiratórias agudas (BRASIL, 2002).

No Brasil, o Ministério da Saúde adota as recomendações da OMS, que são o uso de curvas de referência, para avaliação do estado nutricional em crianças e adolescentes (BRASIL,2002). Os principais indicadores antropométricos adotados para a vigilância nutricional, segundo recomendações da OMS e do Ministério da Saúde para crianças menores que cinco anos são índice de peso-por-idade escores-z (*WAZ-weight for age*), índice de estatura-por-idade escores-z (*HAZ -height for age*) e o índice de peso-por-estatura escores-z (*WHZ-weight for height*), adotando como pontos de corte valores abaixo de -2 escore Z para definir déficits ponderoestaturais e acima de +2 escore Z de P/E. O Escore-Z representa o número de desvios-padrão a partir do ponto central da população referência (WHO,2006),expressos em escores-z para avaliar o padrão de crescimento infantil (**QUADRO 1**).

Quadro 1 - Pontos de corte determinados pela OMS na antropometria de crianças menores de 5 anos de idade

Valores de escores-z	Índices antropométricos		
	WAZ*	WHZ*	HAZ*
< -3	Muito baixo peso para a idade	Desnutrição acentuada	Muito baixa estatura para a idade
≥ -3 e < -2	Baixo peso para a idade	Desnutrição	Baixa estatura para a idade
≥ -2 e < -1	Peso adequado para a idade	Eutrofia	Estatura adequada para a idade
≥ -1 e ≤ +1		Risco de sobrepeso	
> +1 e ≤ +2			
> +2 e ≤ +3	Peso elevado para a idade	Sobrepeso	
>+3		Obesidade	

Fonte: Adaptado de BRASIL (2011) e OMS (2006). Legenda: *Índices de escores-z estudados

O WAZ é um indicador importante utilizado na avaliação do acompanhamento do peso. Embora um baixo WAZ possa refletir um menor peso, ou seja, peso insuficiente para a idade, ele não distingue processos que comprometem o

estado nutricional de forma aguda ou crônica, sendo necessário ter outro indicador. É mensurado pelo índice de altura por idade *escore-z* (WAZ) O HAZ revela o crescimento linear da criança, ou seja, identifica se a estatura da criança está suficiente ou não para a idade e indica bem sobre o efeito de situações pregressas não favoráveis acumuladas que podem comprometer o crescimento da criança. O *Stunting* é a falha no desenvolvimento do crescimento infantil que ocorre em um lento processo acumulativo, resultante de nutrição inadequada e / ou infecções repetidas (desnutrição crônica) o que pode ser irreversível, é mensurado pelo índice de altura por idade *escore-z* (HAZ) (WHO, 2021; BRASIL, 2011).

O WHZ é um índice importante utilizado para identificar oscilações de peso na criança, como emagrecimento e excesso de peso. O *Wasting* é a deficiência no crescimento infantil como resultado da rápida recente perda de peso ou da falha em ganhar peso (desnutrição aguda), pode ser medido pelo índice de peso-por-altura *escores-z* (WHZ) (WHO, 2021; BRASIL, 2011).

No contexto da anemia, sabe-se que a criança pode ter como consequências a alteração no desempenho comportamental, a diminuição da capacidade de aprendizagem e alterações crescimento (WHO, 2001). Assim, é importante estimar as prevalências e a gravidade de alterações nutricionais através da antropometria (ARAUJO; CAMPOS, 2008), considerando que a criança apresenta um crescimento linear acelerado (WHO, 2005) e que a anemia é principal agravo nutricional em crianças nos dois primeiros anos de vida no Brasil (ENANI, 2019).

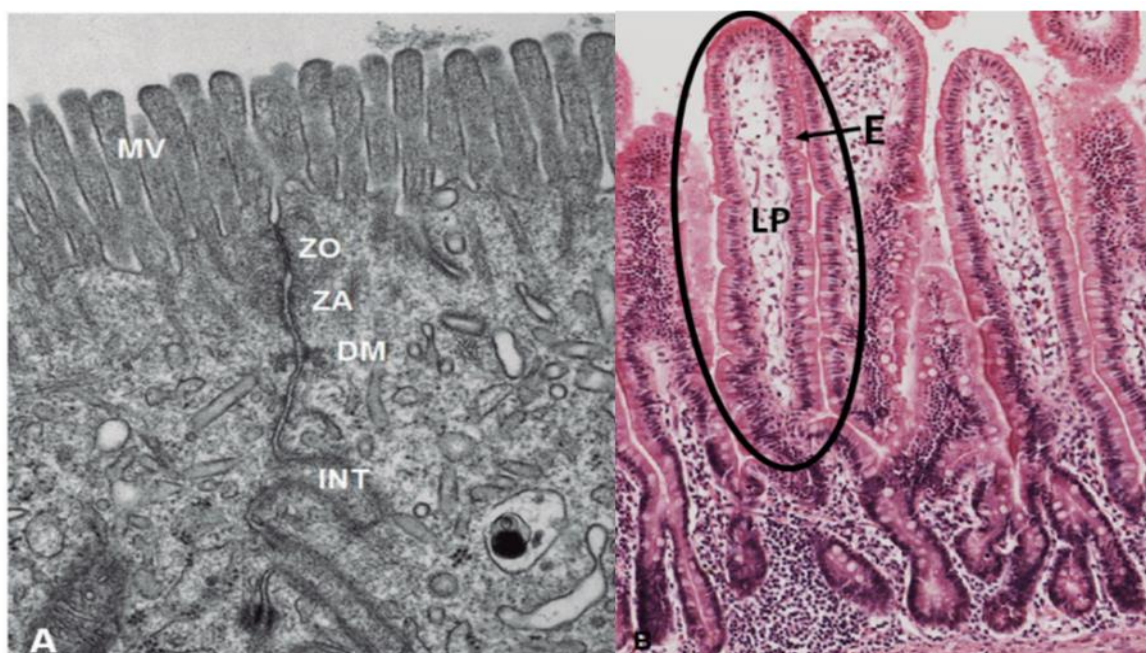
1.4 Barreira Morfofuncional intestinal

1.4.1 Morfologia e Imunidade da Barreira Gastrointestinal

Morfologicamente, uma das principais características do intestino é a existência de vilosidades e de criptas em sua arquitetura. As vilosidades se estendem para o lúmen intestinal e são revestidas por uma só camada de epitélio colunar que contém células terminalmente diferenciadas. As criptas são invaginações epiteliais na mucosa do intestino, responsáveis pelo potencial proliferativo deste tecido. Ambas as regiões (criptas e vilos), possuem uma especificidade em relação às células e suas funções. As células da cripta são indiferenciadas e migram até o vilo por mecanismos não conhecidos. São consideradas células tronco ou totipotentes ou pluripotentes e podem ser danificadas por infecção, toxinas e deficiências nutricionais. Quanto ao

vilo, ele apresenta função absorptiva e não é estático e geralmente tem de três a nove criptas a seu redor (TURNER, 2009; ORIÁ; ANNE; BRITO, 2016; PEREIRA; GOUVEIA, 2019) **(FIGURA 5)**.

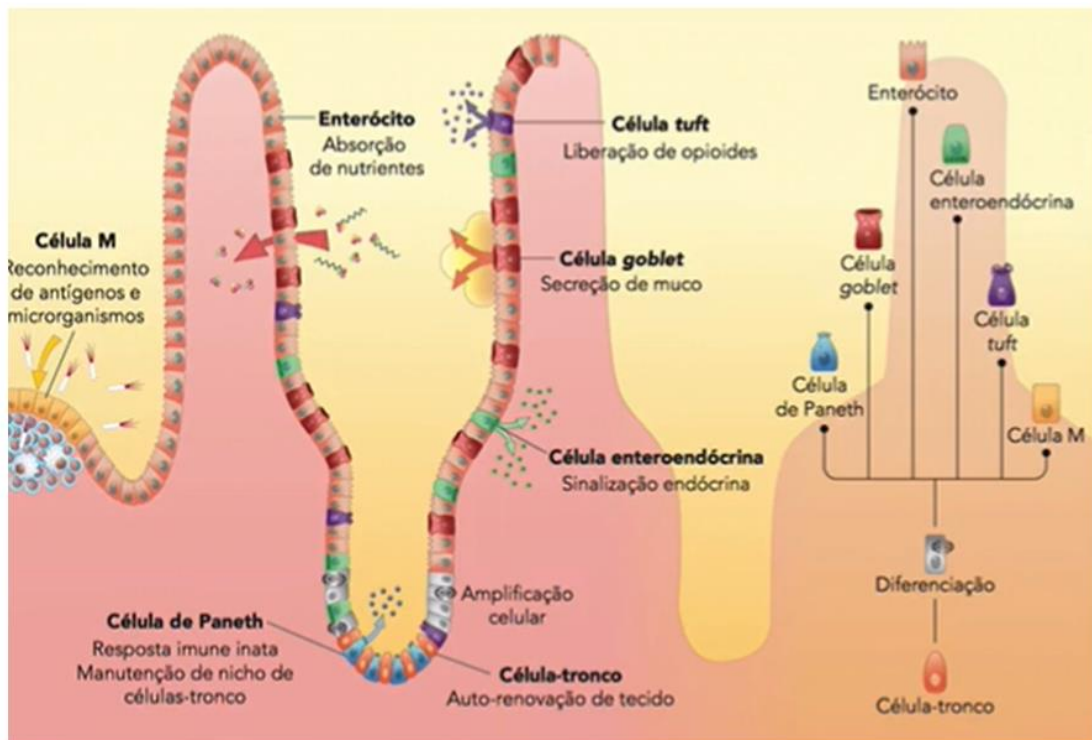
Figura 5 – Morfologia da barreira epitelial gastrointestinal. **A.** Barreira epitelial intestinal. A zônula de oclusão (ZO) representa uma barreira paracelular seletiva, regulando o microambiente intestinal. ZA= zônula de adesão; DM= desmossoma; MV=microvilosidade; INT: interdigitações. Microscopia eletrônica. 20.000X. **B.** Fotomicrografia do intestino delgado com uma das vilosidades circundada. E= epitélio de revestimento. LP=lâmina própria. A lâmina própria também está presente nas criptas. Aumento: A - 100X; B – 100X, coloração HE



Fonte: Oriá; Anne; Brito (2016)

A base do sistema imune associado à mucosa intestinal é constituída pela barreira física, camada de células epiteliais (enterócitos e colonócitos), células caliciformes produtoras de muco (células de Goblet ou Caliciformes), células de Paneth produtoras de peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*), e células responsáveis pela síntese de hormônios intestinais (Células enteroendócrinas), e linfócitos T intraepiteliais (GERBE; JAY, 2016; PEREIRA; GOUVEIA, 2019) **(FIGURA 6)**.

Figura 6 – Modelo atualizado para diferenciação dos tipos de células epiteliais intestinais



Fonte: Gerbe et al., (2011), adaptado por Pereira & Gouveia (2019).

Os AMPs inativam rapidamente as bactérias secretando lisozima, regulando as respostas imunes inatas à adquirida e interferindo na síntese da parede celular bacteriana, entre outros, que é um método de defesa imunológica que evoluiu ao longo do tempo (BEUMER et al., 2003; MUKHERJEE; HOOPER, 2015).

As superfícies mucosas dos mamíferos são bastante suscetíveis à colonização por patógenos e são compostas por tecidos linfoides associados à mucosa que são ricos em células convencionais e especializadas do sistema imune inato e adaptativo (ARTIS, 2008). A mucosa do trato intestinal representa uma via potencial de entrada de microrganismos. O revestimento epitelial do intestino delgado é considerado uma barreira seletiva entre o ambiente interno e o conteúdo luminal que representa o ambiente externo (FIHN; SJO"QVIST; JODAL, 2000). As células epiteliais intestinais mediam as interações entre o sistema imunológico da mucosa e os materiais luminiais. Os mecanismos pelos quais esses epitélios regulam e, inversamente, são regulados pelo sistema imunológico são fundamentais para a homeostase e a doença da mucosa (TURNER, 2009).

Nos dois primeiros anos de vida sabe-se que os componentes imunológicos intestinais como células de Paneth, células enteroendócrinas, ainda estão no processo de desenvolvimento. Estes componentes são fundamentais para identificar as diferenças moleculares existentes entre microrganismos patogênicos e não-patogênicos, contribuindo para o equilíbrio imunológico e homeostase intestinal (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2018).

A função da barreira mucosa consiste nos efeitos combinados de múltiplos processos extracelulares e celulares que podem ser interrompidos globalmente ou de maneira direcionada por estímulos fisiológicos e fisiopatológicos (TURNER, 2009). A barreira epitelial intestinal apresenta dupla função: a de garantir a absorção de nutrientes pela via transcelular bem como a de impedir passagem dos componentes luminiais, tais como bactérias e componentes intactos de alimentos pela via paracelular (RODRIGUES, et al., 2016).

A presença de células epiteliais intestinais e componentes do muco serve como primeira linha de defesa para manter a barreira intestinal (KURASHIMA; KIYONO, 2017). O muco cobre toda a superfície intestinal, que é composta por mucinas derivadas de células caliciformes. O intestino delgado é coberto com uma única camada de muco, enquanto o intestino grosso contém duas camadas principais de muco, com a camada de muco densa interna funcionando principalmente como um escudo protetor para o intestino devido à sua impermeabilidade às bactérias luminiais (JOHANSSON et al., 2011; CORNICK; TAWIAH; CHADEE, 2015).

O aumento da permeabilidade intestinal está associado a doenças inflamatórias intestinais, mas também pode ocorrer em indivíduos saudáveis. A integridade da barreira epitelial é garantida por complexos de junção célula-célula especializados que permitem permeabilidade paracelular seletiva e mantém a adesão intercelular (TURNER, 2009).

Um dos pilares da estrutura de formação da barreira funcional gastrointestinal são as junções firmes (*Tight Junctions*), que são complexos de adesão intercelular essenciais para a função de barreira do epitélio e do endotélio. São estruturas complexas e dinâmicas de contato entre as células onde há uma firme adesão (não selamento) permitindo formar um epitélio semipermeável, seletivo e que permite separar uma estrutura que está na luz intestinal das estruturas do meio interno. As Junções firmes formam a barreira funcional e ela é regulada para a

absorção, permeação de pequenas moléculas, íons e substâncias inorgânicas de pequeno tamanho (TSUKITA; FURUSE, 1998; ZIHNI et al., 2016).

A ruptura da integridade dessa barreira epitelial é caracterizada pelo aumento da permeabilidade intestinal e está relacionada a uma diversidade de doenças, incluindo doenças de pele, intestinais, pulmonares bem como alguns cânceres (SINGH; UPPADA; DHAWAN, 2017). A translocação de bactérias e fragmentos bacterianos como o lipopolissacarídios (LPS) reflete numa maior produção de citocinas inflamatórias pelo sistema imune na mucosa e pode desencadear uma resposta exacerbada e patológica, resultando em um processo de inflamação intestinal (ORIÁ; ANNE; BRITO, 2016). Sabe-se que a perda da integridade dessa barreira pode contribuir para a doença inflamatória intestinal, obesidade e distúrbios metabólicos (CHELAKKOT; GHIM; RYU, 2018).

O aumento na permeabilidade intestinal pode estar relacionado fatores ambientais como infecção e estresse, alergia a alimentos, bem como a infecção por enteropatógenos (CHELAKKOT; GHIM; RYU, 2018). Nesse contexto, a enteropatia ambiental (EE, do inglês *environmental enteropathy*) apresenta-se como um fator clínico relevante e associada a distúrbios na barreira intestinal e pode ser caracterizada como uma condição subclínica de alterações morfológicas e funcionais do intestino de indivíduos que vivem em ambientes com potencial contaminação ambiental (KORPE; PETRI, 2012; KEUSCH et al., 2013; DENNO; VANBUSKIRK; NELSON, 2014).

1.4. 2. *Inflamação intestinal e biomarcadores*

A função da barreira intestinal pode ser comprometida pela desnutrição e infecções intestinais e pode estar vulnerável a processos inflamatório intestinais (WELSH et al., 1998; GAREAU et al., 2006).

Marcadores biológicos de inflamação intestinal possibilitam identificar o grau de severidade, capacidade de monitoramento do curso de uma doença ou de uma resposta a uma intervenção terapêutica. Nesse sentido é fundamental a utilização de biomarcadores que sejam mensurados por testes simples, reprodutíveis, rápidos, não-invasivos, de custo monetário acessível e que tenham potencial de diagnóstico de precisão (RODRIGUES, et al., 2016).

Os biomarcadores fecais compreendem um grupo heterogêneo de substâncias que são importantes indicadores da inflamação intestinal, associados especificamente ao trato gastrointestinal. Os principais biomarcadores de inflamação intestinal são a alfa-1-antitripsina (AAT), neopterinina (NEO) e a mieloperoxidase (MPO) (RODRIGUES, et al., 2016).

A AAT é um indicador de inflamação intestinal da classe do inibidor de protease, produzida pelo fígado, epitélio intestinal e macrófagos. É um marcador útil para sinalizar o aumento da permeabilidade da barreira intestinal durante a inflamação intestinal, sendo considerado um teste fácil, contudo apresenta custo elevado. A NEO é sintetizada por macrófagos e pertence ao grupo das pterinas. É também considerada como um bom indicador da inflamação intestinal e da resposta imune celular, contudo de custo elevado (RODRIGUES, et al., 2016).

A MPO é uma enzima de atividade neutrofílica que compõem os grânulos primários (azurófilos), está presente, em menor quantidade, em monócitos e em macrófagos e é um marcador no monitoramento de doenças inflamatórias intestinais (DENNO; VANBUSKIRK; NELSON,2014). A MPO destaca-se no contexto da anemia, pois se acredita que polimorfismos do gene da enzima MPO podem ter influência na resposta à terapia com ferro em pacientes pediátricos com anemia ferropriva (KAHRAMAN et al., 2021).

É possível que características da dieta do lactente influenciem nas concentrações desses biomarcadores que mudam substancialmente ao longo dos primeiros 2 anos de vida. O consumo contínuo de leite materno ao longo dos primeiros dois anos de vida pode repercutir em concentrações elevadas desses biomarcadores em crianças, principalmente as concentrações de MPO e AAT (MCCORMICK et al., 2017). O leite materno contém AAT, com concentrações mais altas (0,3 g/L) encontradas no colostro e concentrações mais baixas e estáveis (0,1 g/L) no leite maduro (CHOWANADISAI, LÖNNERDAL, 2002).

Embora seja de conhecimento que os três biomarcadores citados não foram totalmente estudados em crianças, pois não existem parâmetros estabelecidos para valores saudáveis ou indicativos de anormalidade, sabe-se que as concentrações fecais desses biomarcadores estão positivamente correlacionadas à quantidade de patógenos detectados nas fezes, principalmente a patógenos

enteroinvasivos ou aqueles que causam ruptura da mucosa (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2016).

1.4.3 Inflamação intestinal e carga de patógenos

No mundo, as parasitoses são o problema de saúde mais comum em crianças em idade escolar, que prejudicam o crescimento e desenvolvimento e causam anemia (SILVA; ALMEIDA, 2022). No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, as parasitoses além de estarem entre os determinantes, estão entre os fatores predisponentes importantes para o desenvolvimento da anemia por deficiência de ferro. Assim, as ações de prevenção como o acesso à água e esgoto adequados necessitam ser priorizadas para o enfrentamento dos principais determinantes da anemia ferropriva, as parasitoses (BRASIL, 2013).

Algumas infecções entéricas causadas por patógenos intestinais não apresentam manifestações clínicas evidentes e são pouco estudadas, embora haja bastante tempo desde os primeiros casos relatados (MALED NET WORK INVESTIGATORS, 2014). Nesse sentido, as infecções entéricas geram alterações adversas na saúde do hospedeiro, mesmo quando a diarreia ou doença gastrointestinal aguda não estejam presentes (KOSEK et al., 2017).

A EE é frequente em crianças que vivem em situação de vulnerabilidade social e acredita-se a exposição contínua a alimentos e água contaminados com fezes sejam as principais causas (WATANABE; PETRI, 2016).

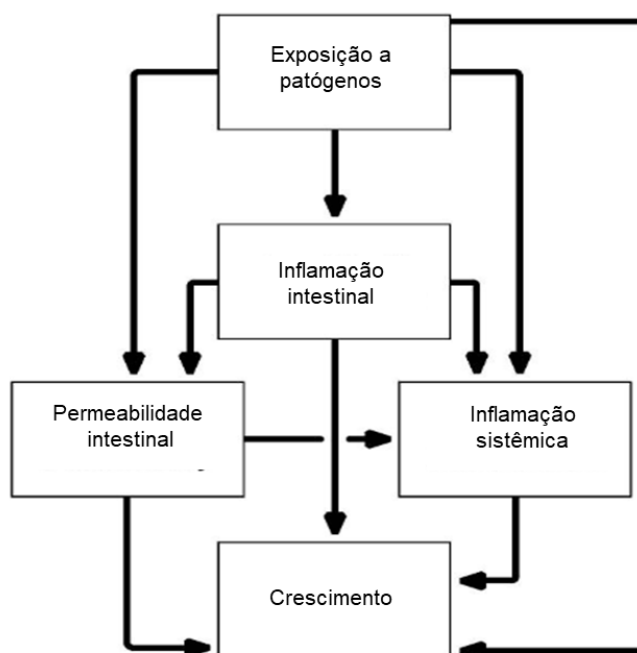
As EE acometem o intestino delgado e se caracteriza pela inflamação intestinal e alteração de permeabilidade da barreira gastrointestinal, comprometendo absorção de nutrientes, gerando translocação de fragmentos bacterianos como LPS repercutindo em inflamação sistêmica de baixo grau mesmo na ausência de diarreia (KORPE; PETRI, 2012). É definida histopatologicamente a partir do exame de material de biópsia e é caracterizada por alteração morfológica (profundidade das criptas e comprometimento da altura das vilosidades) e respostas inflamatórias e imunes alteradas. Muitas mudanças na função intestinal têm sido associadas à EE (KORPE; PETRI, 2012).

Em países tropicais as mesmas anormalidades morfológicas e funcionais também foram descritas e o quadro passou a ser denominado enteropatia tropical.

Evidências mostraram que essas anormalidades eram adquiridas, ou seja, não estavam presentes no recém-nascido e apareciam depois do primeiro semestre de vida (DENNO; VANBUSKIRK; NELSON, 2014; WATANABE; PETRI, 2016).

A EE tem sido proposta ultimamente como um determinante central de déficit de crescimento em crianças. O estudo MAL-ED contribuiu para o entendimento sobre a relação das infecções entéricas subclínicas em crianças de países em desenvolvimento, conduzindo um modelo de sistemas orientado por teoria para avaliar criticamente os caminhos pelos quais os enteropatógenos, a permeabilidade intestinal e a inflamação intestinal e sistêmica repercutem negativamente no crescimento infantil (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2017) (**FIGURA 7**).

Figura 7 – Modelo conceitual das associações entre patógenos, marcadores de função intestinal, inflamação intestinal, inflamação sistêmica e crescimento na coorte MAL-ED, Brasil.



Fonte: MAL-ED Network Investigators (2017).

Em relação aos efeitos das infecções entéricas no desenvolvimento cognitivo, dados provenientes do estudo MAL-ED também mostram que alta carga de enteropatógenos em crianças durante os dois primeiros anos de vida estava associada a baixos escores cognitivos aos dois anos de idade, embora outros fatores, como ocorrência de doenças e valores de hemoglobina, também exerçam importante contribuição (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2018).

Outros estudos sugerem também que crianças com crescimento prejudicado e infecções entéricas repetidas são mais propícias a desenvolver obesidade e morbidades cardiovasculares a longo prazo (DEBOER et al., 2013; GUERRANT et al., 2013). Neste contexto, sabe-se que a ruptura na barreira intestinal associada à modificação da microbiota, a inflamação crônica sistêmica e as alterações epigenéticas, também podem estar envolvidas nesse processo (ORIÁ; ANNE; BRITO, 2016).

De fato, infecções entéricas conduzem à inflamação e danos intestinais. Estes, por sua vez, podem causar má absorção ou perda de nutrientes (GUERRANT et al., 2008). Nesse sentido, a baixa absorção de nutrientes como o ferro, vitamina B12, ácido fólico, vitamina A durante inflamação intestinal pode determinar repercussões clínicas em crianças como a anemia (ANGEL, 2006; GONTIJO et al., 2017). Paralelamente, infecções entéricas comumente predispõem a maiores níveis hematológicos de ferro no organismo devido uma redução na produção de hemoglobina e na absorção de ferro (HERSHKO, 1993).

Nesse contexto, sabe-se que infecções entéricas de repetição são um problema, em especial, em crianças com ingestão dietética limitada (GUERRANT et al., 2008) principalmente durante os dois primeiros anos de vida. As enteroparasitoses intestinais representam uma preocupação para a saúde pública no Brasil (SOARES; OLIVEIRA; SOUZA, 2018) e as crianças são as mais vulneráveis e atingidas, podendo ter o desenvolvimento comprometido, repercutindo em déficit de nutrientes, apetite diminuído, irritabilidade, emagrecimento, atraso no crescimento linear e desenvolvimento cognitivo e social (WHO, 2008; MARQUES et al., 2020). Estudos transversais locais de distintas regiões do Brasil citam uma alta prevalência de verminoses em lactentes menores que 5 anos (COSTA et al., 2015; ANDRADE; DE SÁ; BEZAGIO, 2017; SOARES et al., 2020).

1.4.4 Inflamação Intestinal e ingestão de alimentos fortificados com ferro

Segundo a OMS, as formas recomendadas para ofertar ferro para crianças no segundo ano de vida são: 1) suplementos orais de ferro; 2) terapia medicamentosa de ferro; 3) preparações de ferro para fortificação em casa e 4) alimentos processados fortificados com ferro (WHO, 2007a; WHO, 2007b).

O fornecimento de alimentos fortificados com ferro é uma estratégia usual para prevenir a deficiência de ferro, no entanto é desafiador garantir a absorção (HURRELL, 2012). Um alimento fortificado com ferro não tem sua eficácia garantida em populações com diversas infecções entéricas e outras deficiências nutricionais de micronutrientes (HURRELL, 2007).

A fortificação com ferro na farinha de trigo é obrigatória em 81 países e, quando bem projetada, implementada e monitorada, acredita-se que otimize ou mantenha um nível adequado de ferro dietético (HURRELL, 2010). A OMS cita que a fortificação obrigatória tem maior probabilidade de ter sucesso considerando a centralização e organização do setor industrial (OMS, 2006).

Durante a alimentação complementar, existe a oferta de alimentos fortificados com ferro que têm a vantagem de fornecer uma dose fisiológica de ferro potencialmente distribuído ao longo do dia, a fim de evitar efeitos adversos gastrointestinais. A fortificação em alimentos deve seguir Diretrizes da OMS com o objetivo de garantir a efetividade sem riscos de exceder os valores máximos de ingestão recomendados (CANAUD, 2022).

No Brasil, devido a magnitude da anemia e o compromisso que a Política Nacional de Alimentação e Nutrição no Sistema Único de Saúde (SUS), são estabelecidas ações de prevenção e controle da anemia por deficiência de ferro dentro do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF) que consiste em: 1) suplementação universal com suplementos de ferro em doses profiláticas; 2) fortificação dos alimentos preparados para as crianças com micronutrientes em pó; 3) fortificação obrigatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico; 4) promoção da alimentação adequada e saudável para aumento do consumo de alimentos fontes de ferro (BRASIL, 2013).

Em relação às outras ações de prevenção e controle da anemia por deficiência de ferro estabelecidas pelo PNSF, destaca-se a suplementação profilática com sulfato ferroso desde 2005 que consiste na oferta de ferro para todas as crianças de seis a 24 meses de idade, gestantes ao iniciarem o pré-natal, independentemente da idade gestacional até o terceiro mês pós-parto, (BRASIL, 2013).

Quanto à fortificação obrigatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) atualizou as regras

no processo de enriquecimento das farinhas de trigo e de milho, aumentando o mínimo de ferro de 4,2 mg para 4,0 a 9,0 mg de ferro para cada 100 gramas de produto e aumentando também o mínimo de 150 mcg de ácido fólico para 140 a 220 mcg para cada 100 gramas de farinha. A forma de oferta de ferro nas farinhas passou a ser exclusivamente sulfato ferroso e fumarato ferroso (ANVISA, 2002).

Durante a última década do século XX e primeiros anos do século XXI, alguns estudos realizados no Brasil avaliaram o impacto da fortificação de alimentos com ferro. Embora com populações, duração, desenhos e alimentos fortificados distintos, os principais achados foram o aumento dos valores de hemoglobina e diminuição da prevalência de anemia (VÍTOLO et al., 1998; GIORGINI et al., 2001; DE PAULA et al., 2001; TUMA et al., 2003; MIGLIORANZA et al., 2003; VELLOZO; FISBERG, 2010; AZEREDO et al., 2011; DELLA LUCIA; NOVAES; SANT'ANA, 2012; FREIRE; ALVES; MAIA, 2020; MIRANDA et al., 2020).

Contudo, embora seja de conhecimento os benefícios sobre o consumo de alimentos fortificados com ferro, sabe-se que o alto consumo dietético de alimentos fortificados com ferro conduz a uma elevada presença de ferro no cólon intestinal (JAEGGI et al., 2015; PAGANINI et al., 2017).

Nesse sentido, estudos clínicos que avaliaram o elevado consumo de suplementos de ferro e fortificação de alimentos com ferro por crianças e lactentes identificaram um aumento do risco de diarreia (PAGANINI,ZIMMERMANN, 2017), bem como o comprometimento da microbiota intestinal diminuindo a diversidade de bactérias benéficas (por exemplo, *bifidobactérias* e *lactobacilos*), aumento quantitativo de bactérias gram negativas como a *Salmonella Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli* patogênica, gerando inflamação intestinal (JAEGGI et al., 2014).

1.5 Justificativa

Considerando que a anemia é um dos problemas nutricionais mais comuns no mundo e que há uma lacuna de estudos longitudinais prospectivos que analisam a ingestão usual de nutrientes da alimentação complementar entre crianças com e sem anemia durante os dois primeiros anos de vida, faz-se necessário explorar a análise das relações e associações entre a anemia ingestão usual de nutrientes da alimentação complementar e índices antropométricos, considerando a relação entre

carga de patógenos intestinais e biomarcadores de inflamação intestinal durante os dois primeiros anos de vida.

Estudo de Etiologia, Fatores de Risco e Interações de Infecções Entéricas e Desnutrição e as Consequências para a Saúde Infantil (MAL-ED), liderado pelo Centro Internacional Fogarty dos Institutos Nacionais de Saúde e pela Fundação para os Institutos Nacionais de Saúde, foi estabelecido em comunidades de 8 países com incidência historicamente alta de doenças diarreicas e desnutrição. O MAL-ED estudou um sistema complexo de exposições e resultados de saúde na comunidade durante o período crítico de desenvolvimento dos dois primeiros anos de vida.

Assim, a coorte MAL-ED possibilitou no presente estudo uma análise prospectiva do consumo de nutrientes da alimentação alimentar em crianças com e sem anemia considerando infecção por enteropatógenos, inflamação intestinal e antropometria nos dois primeiros anos de vida.

2 HIPÓTESES

Este estudo apresentou principais hipóteses norteadoras: 1) postula-se que a anemia está associada à ingestão de nutrientes da alimentação complementar bem como a alterações de peso e comprimento em crianças menores de dois anos; 2) postula-se que a anemia está associada à inflamação intestinal e a carga de patógenos entéricos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar as associações entre anemia, ingestão de nutrientes da alimentação complementar, considerando a relação entre carga de patógenos intestinais e biomarcadores fecais de inflamação intestinal durante os dois primeiros anos de vida.

3.2 Objetivos Específicos

- Identificar a anemia ao longo dos períodos estudados (7^o, 15^o e 24^o mês de vida);
- Caracterizar a anemia ao longo dos períodos estudados (7^o, 15^o e 24^o mês de vida);
- Estimar a ingestão habitual de macronutrientes, micronutrientes e minerais em crianças anêmicas e não anêmicas nos períodos estudados;
- Identificar possíveis alterações de marcadores antropométricos em crianças com anemia;
- Investigar a correlação entre hemoglobina, biomarcadores fecais de inflamação intestinal e anemia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Os protocolos do estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade da Virgínia e da Universidade Federal do Ceará. Este estudo foi conduzido e controlado de acordo com a Resolução 466/12, que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e é uma extensão da Declaração de Helsinki no Brasil. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Ceará CEP/UFC/PROPESQ, que possui registro nº 5054, devidamente registrado no Comitê de Ética da Comissão Nacional (CONEP). O estudo tem o número 25000.9836/2009-76 no Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Ceará CEP/UFC/PROPESQ, aprovado sob parecer nº232/10 (ANEXO 1).

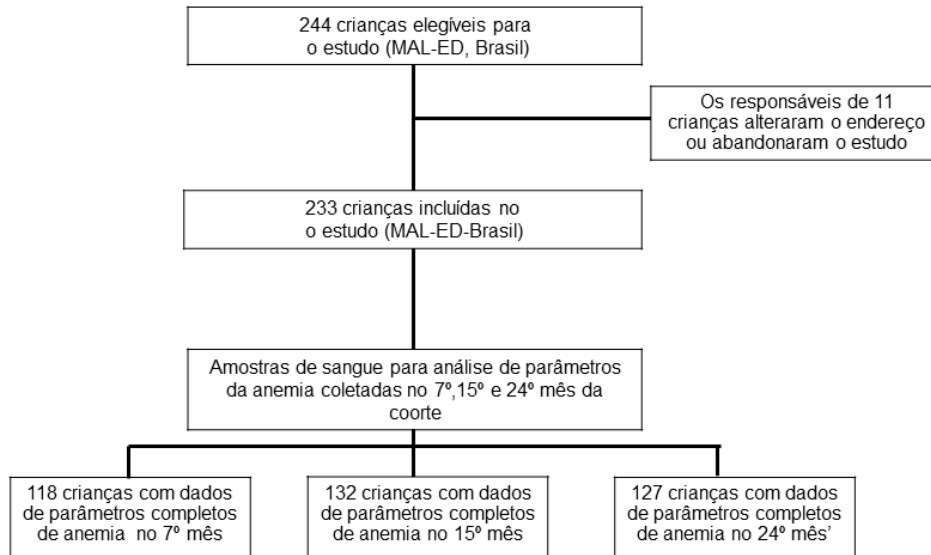
As mães ou responsáveis consentiram a participação das crianças no estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2). Os critérios de inclusão contemplavam recém-nascidos saudáveis de até 17º dia de vida, pais e cuidadores da criança que não tinham planos de deixar o local de estudo por no mínimo 6 meses desde a inscrição no estudo e a disponibilidade do cuidador em ser visitado pela equipe do estudo em casa duas vezes por semana. Entre os critérios de exclusão estavam mães com idade inferior a 16 anos, mães com outro filho participando no estudo, crianças gêmeas, crianças com peso ao nascer inferior a 1500 g, crianças que apresentavam doença grave que necessitasse de hospitalização ou qualquer outra doença grave ou condição crônica, como infecção por HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), tuberculose, doença renal, insuficiência cardíaca crônica ou doença hepática grave (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2014; CAULFIELD et al., 2014).

4.2 Tipo, população e local do estudo

A coorte MAL-ED foi um estudo longitudinal prospectivo, realizado entre anos 2009 e 2017. As crianças entre 0 e 24 meses do presente estudo são referentes ao centro brasileiro da coorte MAL-ED (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2017). O estudo foi realizado em uma comunidade de baixa renda, no bairro Parque Universitário, em Fortaleza, no estado do Ceará, Nordeste do Brasil

(CAULFIELD et al.,2014). Dentre as 233 crianças do estudo, os dados de anemia estavam presentes em 118 (7^o mês), 132 (15^o mês) e 127(24^o mês) (**FIGURA 8**).

Figura 8 – Fluxograma da população do estudo de coorte MAL-ED, Brasil.



Fonte: Autoria própria (2022).

4.3 Coleta de dados

Um banco de dados específico foi montado para o presente estudo com base em informações dos bancos pré-existentes da coorte MAL-ED. Estes bancos utilizados foram: banco de dados MAL-ED BRF *site* nutrientes.xls; banco de dados MAL-ED BRF *site* anemia.xls; banco de dados MAL-ED BRF *site* biomarcadores fecais de inflamação.xls; banco de dados MAL-ED BRF *site* carga de patógenos.xls e banco de dados MAL-ED BRF *site* índices antropométricos.xls. Os bancos pré-existentes utilizados e o novo banco criado para o presente estavam todos no formato Excel. Em seguida o banco montado especificamente para este presente estudo foi transferido para o SPSS (do inglês, *Statistical Package for the Social Science*), software estatístico IBM® SPSS versão 22.0 para Windows e assim foram realizadas as análises.

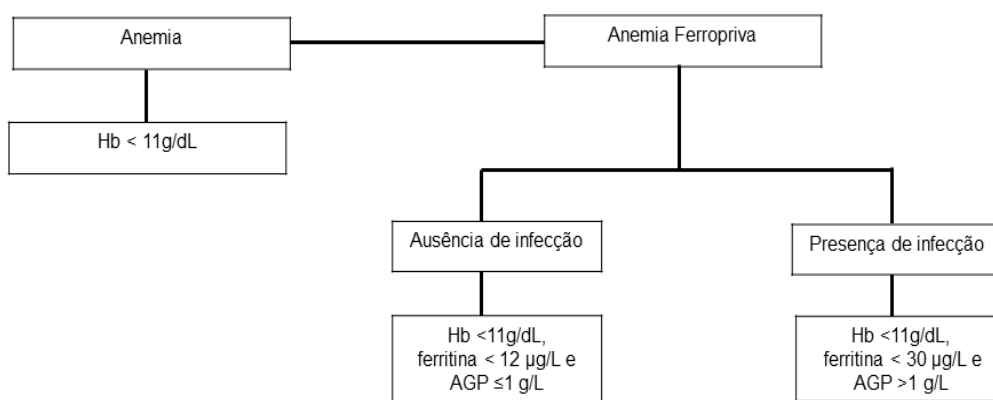
4.3.1 Dados bioquímicos para definição de anemia

Os dados para definição de anemia e anemia ferropriva foram coletados no 7^o, 15^o e 24^o mês de vida das crianças. Nestes meses foram determinadas as

concentrações de biomarcadores do estado nutricional do ferro (hemoglobina e ferritina) e α -1-glicoproteína ácida (AGP) (WHO, 2020).

Foram consideradas com anemia, aquelas crianças que apresentavam hemoglobina (Hb) $< 11\text{g/dL}$. Para o diagnóstico de anemia ferropriva na ausência de infecção a criança apresentou Hb $< 11\text{g/dL}$, ferritina $< 12\ \mu\text{g/L}$ e AGP $\leq 1\ \text{g/L}$; e para o diagnóstico de anemia ferropriva com infecção a criança apresentou Hb $< 11\text{g/dL}$, ferritina $< 30\ \mu\text{g/L}$ e AGP $> 1\ \text{g/L}$ (BRINDA, 2017; WHO, 2020; WHO, 2021) (**FIGURA 9**). Para determinação da anemia por deficiência de vitamina B12 ou outras causas não foram realizadas análises de parâmetros bioquímicos para o diagnóstico no estudo MAL-ED.

Figura 9 – critérios de diagnóstico de anemia, anemia ferropriva e inflamação utilizados na coorte MAL-ED, Brasil.



Fonte: Adaptada de THURNHAM (2014); BRINDA (2017); WHO (2020); WHO (2021).

4.3.2 Avaliação da ingestão de nutrientes da alimentação complementar

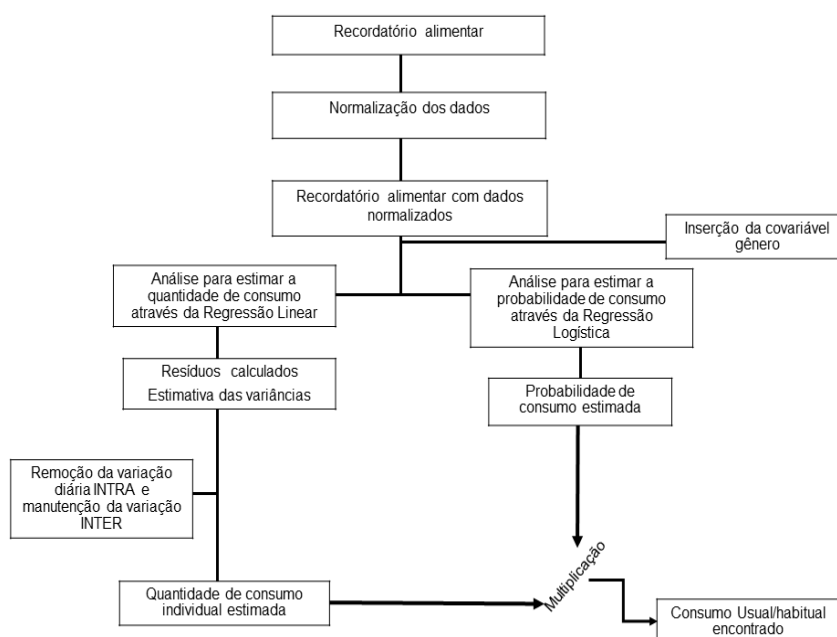
A ingestão usual de nutrientes da alimentação complementar das crianças foi determinada através da coleta de recordatórios quantitativos de 24 horas, aplicados uma vez ao mês. Por criança, foram analisados, em média, quatorze recordatórios, entre o 9º e 24º mês de vida criança (CAULFIELD et al., 2014). Não houve coleta de recordatório no 7º mês, pois acreditou-se que nesse período há somente um reconhecimento de novos alimentos, texturas, consistências e sabores, não contemplando assim uma ingestão de nutrientes usual da criança. Assim, determinou-se o 15º e 24º mês para a estimativa de ingestão de nutrientes nos dois primeiros anos de vida no presente estudo.

Os dados de ingestão de nutrientes foram obtidos através da informação relatada pelos pais ou responsáveis de alimentos e preparações consumidos pela

criança no decorrer do dia através de medidas caseiras. Estas medidas caseiras foram convertidas em gramas ou mililitros e posteriormente foram inseridas em tabelas de composição de alimentos, que foram a tabela regional – TACO (TACO,2011) e tabela do Banco de dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA (USDA, 2007), obtendo assim a quantidade de nutrientes ingeridos. Esta ingestão de nutrientes foi ajustada pela variância intrapessoal a fim de obter uma distribuição corrigida por esses valores (JUNIOR et al., 2013). Para estimativa da ingestão de nutrientes aos 15 meses, foram utilizados sete recordatórios do 9 – 15^o mês; para estimativa da ingestão de nutrientes aos 24 meses, foram utilizados também sete recordatórios do 18 – 24^o mês.

Os dados da ingestão de nutrientes apresentaram distribuição assimétrica e assim necessitaram ser transformados para terem uma distribuição normal, identificando quanto às distribuições estimadas ingestão de nutrientes habitual desviavam da verdadeira distribuição (SLATER; MARCHIONI; FISBERG, 2004). Para esta mensuração utilizou o *Multiple Source Method* – MSM, que é um método estatístico desenvolvido por Haubrock and Harttig para estimar a dieta habitual através da ingestão de nutrientes e/ou de alimentos (HARTTIG et al., 2011) (**FIGURA 10**).

Figura 10 – Fluxograma da metodologia da avaliação da ingestão de nutrientes habitual pelo *Multiple Source Method* (MSM).



Fonte: Autoria própria (2022).

Com o MSM foi calculada a estimativa de ingestão habitual em três etapas. Inicialmente estimou-se a probabilidade de consumo, ou seja, a probabilidade de cada criança do estudo de ingerir cada nutriente através de um modelo de regressão logística. Separadamente, calculou-se a quantidade da ingestão de nutrientes de cada criança por meio de uma regressão linear onde geraram resíduos. Estes resíduos foram normalizados por uma transformação Box-Cox. As variações diárias de ingestão intraindividual e interindividual foram identificadas dentro desses resíduos gerados que necessitaram ser normalizados para remover a variância intraindividual através de cálculos próprios do método estatístico MSM.

Nesta etapa foi incluída uma co-variável preditiva, o sexo, que foi multiplicada por um coeficiente, o coeficiente Beta x1, que é o ângulo de inclinação da reta para covariável. Os nutrientes analisados foram proteína (g/dia), carboidrato (g/dia), lipídio(g/dia), vitamina A ($\mu\text{g}/\text{dia}$), vitamina C (mg/dia), vitamina D ($\mu\text{g}/\text{dia}$), ácido fólico ($\mu\text{g}/\text{dia}$), vitamina B12 ($\mu\text{g}/\text{dia}$), os minerais ferro (mg/dia) e zinco(mg/dia) além da energia (Kcal/dia) e fibras(g/dia).

Entende-se por variância intraindividual a variação de ingestão da criança para ela mesma entre os dias. Foi necessário remover esta variância devido à necessidade de estimar uma ingestão usual de um período com base em informações dos recordatórios analisados. Entende-se por variação interindividual a variação de ingestão da criança em relação a outras crianças entre os dias O MSM não removeu a variação interindividual porque a mesma é inerente aos resultados isso porque independente do tempo de análise de ingestão, curto ou longo prazo, sempre existiu e sempre existirá uma variação de ingestão entre as crianças devido à ingestão os nutrientes de uma forma distinta (HARTTIG, et al., 2011).

Por fim, multiplicou-se a probabilidade de ingestão de nutrientes pelas crianças em um dia aleatório pela ingestão usual da criança em um dia. O resultado gerou uma estimativa para o consumo habitual ingestão diária de nutrientes para cada criança (HARTTIG, et al.,2011).

É necessário corrigir os vieses de mensuração quando se utiliza métodos de estimativa alimentar usual em estudos (HARTTIG, et al., 2011). Como reflexos da ausência de correção desses vieses tem-se: 1) ausência de uma diferenciação entre verdadeiros não consumidores e ocasionais consumidores em medidas de curto

prazo; 2) possibilidade de subestimar ou superestimar o percentual de pessoas que apresentam um consumo inadequado de um alimento ou nutriente (JUNIOR et al., 2013).

Posteriormente, após ter mensurado a ingestão habitual, foi realizado o ajuste da quantidade do nutriente em relação à energia, através de regressão linear simples (JUNIOR et al., 2013). Considerando que a verdadeira associação entre nutrientes e o desfecho não poderá ser identificada se o efeito da energia não for removido os valores dos macronutrientes, energia, fibras, vitaminas e minerais da dieta necessitaram ser ajustados pela energia pelo Método Residual (WILLETT; HOWE; KUSHI, 1997). O banco de dados com a ingestão habitual de nutrientes foi inserido no software estatístico IBM® SPSS. Inicialmente foi calculada a média da energia total consumida através do software. Em seguida realizou-se uma regressão linear simples onde a variável dependente considerada foi o nutriente e a variável independente a energia na condição de resíduos não padronizáveis. Utilizou-se também uma constante β dos coeficientes da regressão para calcular a constante do nutriente. Por fim, o nutriente ajustado pela energia consistiu na soma final da constante mais o resíduo (rs).

4.3.3 Aleitamento Materno e Status Socioeconômico

As práticas de aleitamento materno foram investigadas através de dois questionários, um foi aplicado em visitas que aconteciam duas vezes por semana e o outro questionário foi aplicado mensalmente. A variável aleitamento materno foi categorizada em aleitamento exclusivo quando a criança recebesse apenas leite materno, com exceção de medicações e vitaminas e aleitamento quando a criança recebia outros tipos de leite, fórmula e/ou alimentos sólidos ou semissólidos, além do leite materno. E sem aleitamento se não houvesse ingestão de leite materno. Assim, também foi calculada a soma de dias em aleitamento materno exclusivo.

A variável aleitamento materno foi inserida em alguns modelos de análise como no desenvolvimento do modelo de regressão, mas a variável não se mostrou adequada ao modelo.

O status socioeconômico (SES) foi investigado através de um questionário adaptado que incluía como variáveis o acesso à água potável e ao saneamento básico, bens domésticos, educação materna e renda mensal familiar (PSAKI et al., 2014). A adaptação do questionário deu-se a partir dos inquéritos dos *Demographic and Health Surveys* (DHS) (RUTSTEIN; JOHNSON, 2004) e o acesso à água potável e ao saneamento básico baseando-se nas definições da OMS (WHO, 2008). Assim foi calculado índice validado *Water, Assets, Maternal education and household Income* (WAMI) (PSAKI et al., 2014).

4.3.4 Índices antropométricos nos dois primeiros anos de vida

O estado nutricional das crianças foi classificado de acordo com as recomendações da OMS usando o índice de peso-por-idade escores-z (*WAZ-weight for age*), índice de estatura-por-idade escores-z (*HAZ -height for age*) e o índice de peso-por-estatura escores-z (*WHZ-weight for height*) (WHO,2006). O peso e o comprimento foram coletados mensalmente na data de aniversário de nascimento da criança, podendo variar ± 2 dias, iniciando no momento da entrada no estudo até o 24º mês. A equipe de pesquisa clínica foi treinada para aferição das medidas (LIMA et al., 2014).

As crianças até 24 meses tinham o comprimento mensurado por antropômetro infantil com precisão de 0,1 cm e o peso foi aferido em balanças digitais com precisão de 100 g utilizando os procedimentos preconizados pela OMS (WHO,2006). Semanalmente os equipamentos utilizados eram revisados e calibrados (LIMA et al., 2014). Caso uma medida aferida se mostrasse incomum de forma considerável, a criança era medida novamente na primeira oportunidade, geralmente dentro de 2 dias.

No processo de controle de qualidade central executado pelo Centro de Coordenação de Dados do MAL-ED, quando os valores se encontravam substancialmente distintos das medições anteriores e posteriores (peso > 1,5 kg diferente, comprimento > 3,5 cm diferentes das medições anteriores e posteriores) eram sinalizados para revisão pelo local do estudo e se necessário, um novo treinamento era administrado à equipe do estudo (RICHARD et al., 2014).

4.3.5 Carga de patógenos

As amostras de fezes não diarreicas foram coletadas mensalmente durante visitas domiciliares (RICHARD et al., 2014). As amostras foram testadas para 29 patógenos usando PCR quantitativo, Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*) com Placas de matriz TaqMan de design personalizado (ThermoFisher) (LIU et al., 2016a).

O número total de bactérias, vírus e os parasitas detectados em cada amostra de fezes foram calculados em ciclos de quantificação (Cq), mais comumente chamado de limite de ciclo (Ct), que são os valores do ciclo de PCR em que a fluorescência da amplificação excede o limiar. Os níveis de Ct são inversamente proporcionais à quantidade de ácido nucleico alvo presente na amostra. Assim, uma amostra foi considerada positiva para um patógeno quando o limite quantitativo do ciclo de PCR era inferior a trinta e cinco (o limite analítico de detecção) e o número médio de cada grupo de patógenos entre 7 e 24 meses de idade foi usado para caracterizar a carga de patógenos subclínicos durante este período de idade (LIU et al., 2016b).

Os patógenos foram agrupados da seguinte forma: bactérias (*Campylobacter* spp., *Shigella*, *Escherichia coli* enteroagregativa, *E. coli* enteropatogênica típica, *E. coli* enteropatogênica atípica, *E. coli* enterotoxigênica, *E. coli* produtora de toxina Shiga 1 e 2, *Aeromonas*, *Helicobacter pylori*, *Plesiomonas*, *Salmonella* e *Vibrio cholerae*); vírus (rotavírus, norovírus, adenovírus 40/41, astrovírus e sapovírus) e parasitas (*Cryptosporidium*, *Giardia*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Trichuris*, *Enterocytozoon intestinalis*, *Cyclospora*, *Isospora*, *Entamoeba histolytica*, *Acylostoma*, *Ascaris*, *Necator* e *Strongyloides*) (HOUPY et al., 2014).

4.3.6 Biomarcadores fecais de Inflamação Intestinal

Foram mensuradas três proteínas nas fezes para investigar a inflamação intestinal, os três biomarcadores foram: α -1-antitripsina (AAT), considerado um biomarcador de perda de proteína; a neopterinina (NEO), um biomarcador de ativação de células imunes T helper tipo 1 (Th1) e a mieloperoxidase (MPO), considerado um indicativo de atividade neutrofílica na mucosa intestinal. As amostras de fezes foram coletadas em recipiente estéril, aliquotadas e armazenadas em criotubos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até

a análise. As amostras foram avaliadas usando kits ELISA para AAT (Biovendor®), MPO (Alpaco®) e NEO (GenWay Biotech®), de acordo com a instruções do fabricante, conforme descrito por Kosek (KOSEK et al., 2013).

Os três biomarcadores foram avaliados no 7º, 15º e 24º mês. Para aquelas crianças que não tinham os dados de biomarcadores exatamente nestes meses foram utilizados os meses mais próximos. Quando os dados dos biomarcadores do 7º mês estavam ausentes, utilizou-se os dados do 6º ou 8º mês. Na ausência dos dados de biomarcadores no 15º mês, foi utilizado os dados do 18º mês e quando a criança não tinha os dados dos biomarcadores no 24º mês, foi utilizado o dado do 21º mês.

4.4 Análise dos dados

O teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar se as variáveis em estudo assumiam distribuição normal. As variáveis que não assumiam distribuição normal foram apresentadas através de medianas e intervalo interquartil (Q1 – Q3) e variáveis que assumiam distribuição normal foram apresentadas como média e desvio-padrão. As variáveis categóricas foram apresentadas como frequências, sendo realizado o teste de Qui-quadrado para comparar duas variáveis ou grupos diferentes. O teste Kruskal-Wallis também foi utilizado e é definido com um teste não paramétrico que realiza comparação entre pares de três grupos diferentes.

Os coeficientes de correlação de Spearman (r_s) foram calculados para avaliar as correlações entre hemoglobina, vitamina B12, biomarcadores de inflamação intestinal, e carga total de patógenos nos respectivos tempos de estudo, 7º, 15º e 24º mês.

Foram construídos dois modelos de regressão logística binária: um considerou como variável resposta a anemia e anemia ferropriva, ambos em função do sexo, inflamação intestinal, antropometria consumo de vitamina B12 e carga de patógenos. Antes das regressões multivariadas, foram realizadas as bivariadas. Os dois modelos finais ajustados foram escolhidos observando o teste de Omnibus, com p valores menores que 0,05 e o teste de Hosmer e Lemeshow, com p valores superiores que 0,05. Os modelos de regressão foram apresentados através do OR (*odds-ratio*) e intervalos de confiança (IC) de 95%.

As análises dos dados do presente estudo foram realizadas no software estatístico IBM® SPSS.

5 RESULTADOS

As características da população estudada encontram-se detalhadas a seguir. Observou-se um maior percentual de crianças do sexo masculino em todos os períodos estudados, sendo 53,4% no 7^o mês, 52,2% no 15^o mês e 52% no 24^o mês. O aleitamento materno diminuiu significativamente ao longo do estudo, reduzindo de 79,20 % das crianças no 7^o mês, para 63,60% no 15^o mês e 46,80 % no 24^o mês de vida (Qui-quadrado, $p= 0,000$). A variável WAMI não apresentou nenhuma variação significativa ao longo dos meses.

.Os valores de hemoglobina das crianças aumentaram durante o período estudado: os valores de hemoglobina que correspondiam a mediana subiram de 11,10 (9,87 – 12,02) no 7^o mês, para 12,00 (10,60 – 13,30) no 24^o mês (Kruskal-Wallis, $p = 0,000$). Os valores de AGP também aumentaram nas crianças no decorrer dos meses estudados: os valores de AGP que correspondiam a mediana subiram de 0,85 (0,69 – 1,06) aos 7 meses para 0,97 (0,76 – 1,21) aos 24 meses (Kruskal-Wallis, $p = 0,016$). A carga de patógenos diminuiu no decorrer do tempo estudado bem como a carga de protozoários, atingindo menores valores no 24^o mês (Kruskal-Wallis, $p = 0,000$).

No Pós-teste de Dunn, houve diferença na comparação entre pares durante os períodos estudados. A hemoglobina foi diferente entre os tempos sendo menor no 7^o e maior 24^o mês. O WAZ foi maior no 15^o mês e foi diferente entre o 15^o e 24^o mês e o WHZ foi menor no 7^o e foi maior 24^o mês, e entre 15^o e 24^o mês foi diferente. A AGP foi menor nos 7^o e 15^o meses e maior no 24^o mês. A carga total de patógenos e a carga de protozoários foram diferentes, sendo maior no 7^o e menor no 24^o mês. Já a ferritina não se apresentou diferente entre os períodos estudados. (TABELA 1).

Tabela 1 – Caracterização das crianças estudadas, segundo sexo, aleitamento materno, peso ao nascer, variáveis socioeconômicas, parâmetros de anemia, inflamação e carga de patógenos do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida

Variáveis categóricas	7 meses (n = 118) n (%)	15 meses (n = 132) n (%)	24 meses (n = 127) n (%)	p valor
Sexo, n (%)				
Masculino	63 (53,4)	69 (52,2)	66 (52,0)	0,973
Feminino	55 (46,6)	63 (47,7)	61 (48,0)	
Total	118 (100,0)	132 (100,0)	127 (100,0)	
Aleitamento Materno				
Sim, parcial	76 (79,2)	84 (63,6)	59 (46,8)	0,000
Não	20 (20,8)	48 (36,4)	67 (53,2)	
Total	96 (100,0)	132 (100,0)	126 (100,0)	
Variáveis quantitativas	7 meses (n = 118) Média (SD) ou Mediana (Q1 – Q3)	15 meses (n = 132) Média (SD) ou Mediana (Q1 – Q3)	24 meses (n = 127) Média (SD) ou Mediana (Q1 – Q3)	p valor
Peso ao nascer (Kg)	3.295 (0,463)	3.361 (0,515)	3.337 (0,537)	0,582
Status socioeconômico WAMI	0,86 (0,78 – 0,89)	0,84 (0,78 – 0,89)	0,86 (0,78 – 0,89)	0,622
Antropometria				
WAZ (escores z)	0,44 (-0,22 – 1,35)	0,53 (-0,26 – 1,50) *	0,22 (-0,44 – 0,96) *	0,031
HAZ (escores z)	0,02 (-0,85 – 0,80)	0,12 (-0,75 – 0,78)	-0,03 (-0,82 – 0,72)	0,806
WHZ (escores z)	0,80 (0,00 – 1,72) *	0,79 (-0,07 – 1,71) *	0,23 (-0,41 – 1,16) *	0,002
Parâmetros de Anemia e Inflamação				
Hemoglobina (g/dl)	11,10 (9,87 – 12,02) **	11,45 (9,80 – 12,77) **	12,00 (10,60 – 13,30) **	0,000
Ferritina (µg/L)	28,30 (18,48 – 40,53)	25,00 (15,46 – 40,27)	27,30 (15,40 – 39,50)	0,225
AGP (g/L)	0,85 (0,69 – 1,06) *	0,96 (0,78 – 1,27) *	0,97 (0,76 – 1,21) *	0,016

Carga de patógenos				
Bactérias (Ct)	0,67 (0,46 – 1,00) *	1,00 (0,75 – 1,40) *	1,00 (0,59 – 1,52) *	0,000
Protozoários (Ct)	0,00 (0,00 – 0,00) **	0,00 (0,0 – 0,28) **	0,17 (0,00 – 0,72) **	0,000
Vírus (Ct)	0,13 (0,00 – 0,25)	0,18 (0,00 – 0,40)	0,17 (0,00 – 0,29)	0,062
Total de patógenos (Ct)	0,88 (0,61 – 1,50) **	1,40 (1,00 – 2,00) **	1,90 (0,86 – 12,85) **	0,000
Biomarcadores de inflamação intestinal				
Alfa-1-Antitripsina (µg/g)	0,27 (0,14 – 0,41)	0,24 (0,12 – 0,45)	0,30 (0,15 – 0,51)	0,344
Mieloperoxidase (ng/ml)	3157,32 (873,32 – 7204,61) **	3251,58 (1039,86 – 7123,82) **	1423,93 (556,91 – 2744,08) **	0,000
Neopterina (nmol/L)	2102,00 (920,68 – 3860,20) *	1258,89 (753,65 – 2149,22) *	1124,43 (666,76 – 2035,86) *	0,000

WAMI = índice composto por quatro componentes: água/saneamento básico, bens domésticos, renda familiar mensal e escolaridade materna em anos; AGP = alfa 1- glicoproteína ácida. WAZ (*weight for age*) peso por idade; WHZ (*weight for height*) peso por comprimento; HAZ (*height for age*) comprimento por idade. As variáveis categóricas foram testadas utilizando o teste Qui-quadrado; as medianas foram testadas utilizando o teste não paramétrico Kruskal-Wallis. * diferença na comparação entre pares ($p < 0,05$); ** diferença na comparação entre pares ($p < 0,01$).

Fonte: dados da pesquisa.

As prevalências de anemia e anemia ferropriva estão detalhadas na **TABELA 2**. A anemia diminuiu ao longo do período estudado, de 47,5% no 7º mês para 40,2% no 15º mês e para 26% no 24º mês (Qui-quadrado, $p = 0,002$). A anemia ferropriva também diminuiu de 14,4 % no 7º mês para 6,3% no 24º mês, porém sem significância estatística (Qui-quadrado, $p = 0,083$).

Tabela 2 – Anemia e anemia ferropriva em crianças do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida.

	7 meses (n = 118) n (%)	15 meses (n = 132) n (%)	24 meses (n = 127) n (%)	p valor*
Anemia				
Sim	56 (47,5)	53 (40,2)	33 (26,0)	0,002
não	62 (52,5)	79 (59,8)	94 (74,0)	
Total	118 (100,0)	132 (100,0)	127 (100,0)	
Anemia Ferropriva				
Sim	17 (14,4)	18 (13,6)	8 (6,3)	0,083
não	101 (85,6)	114 (86,4)	119 (93,7)	
Total	118 (100,0)	132 (100,0)	127 (100,0)	

*Teste Qui-quadrado. Foi considerado como Anemia quando hemoglobina estava < 11 (Hb < 11 g/dL); foi considerado anemia ferropriva quando na ausência de infecção/inflamação quando Hb estava < 11 g/dL e ferritina < 12 μ g/L (AGP^c ≤ 1 g/L na ausência de infecção/inflamação); foi considerado como Anemia ferropriva na presença de infecção/inflamação quando Hb estava < 11 g/dL e Ferritina < 30 μ g/L (AGP^c > 1 g/L na presença de infecção/inflamação) AGP: *alfa 1- glicoproteína ácida*

Fonte: dados da pesquisa

Em relação aos indicadores antropométricos (**TABELA 3**) observou-se as crianças com anemia apresentaram menores scores Z para WAZ e HAZ no 7º mês (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), entretanto, no 15º mês, as crianças com anemia apresentaram maiores z scores para WAZ e WHZ (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Nas **TABELAS 4 e 5** estão detalhados o consumo alimentar de crianças com e sem anemia no 15º e 24º mês, respectivamente. Observou-se que o consumo de vitamina B12 foi menor em crianças com anemia no 15º mês de vida (Mann-Whitney, $p = 0,014$). Em relação aos demais nutrientes e energia, não se observou diferenças no consumo entre crianças anêmicas e não anêmicas durante o 15º e 24º mês de vida.

Tabela 3 – Caracterização das crianças estudadas, segundo anemia, anemia ferropriva e antropometria do estudo MAL-ED Fortaleza-CE, Brasil, no 7º, 15º e 24º mês de vida.

Variáveis quantitativas	7 meses (n = 118) Mediana (Q1 – Q3)	15 meses (n = 132) Mediana (Q1 – Q3)	24 meses (n = 127) Mediana (Q1 – Q3)
Antropometria			
WAZ (escores z)			
Anemia (Não)	0,56 (-0,03 – 2,06) *	0,40 (-0,40 – 1,13) *	0,21 (-0,53 – 0,76)
Anemia	0,33 (-0,35 – 1,12) *	0,80 (0,09 – 1,98) *	0,28 (-0,21 – 1,29)
Anemia ferropriva (Não)	0,46 (-0,19 – 1,45)	0,49 (-0,27 – 1,44)	0,23 (-0,44 – 0,86)
Anemia ferropriva	0,25 (-0,44 – 1,08)	0,85 (-0,07 – 1,80)	-0,00 (-0,42 – 1,12)
HAZ (escores z)			
Anemia (Não)	0,36 (-0,37 – 1,13) **	-0,09 (-0,85 – 0,79)	-0,14 (-0,87 – 0,69)
Anemia	-0,31 (-1,00 – 0,31) **	0,30 (-0,38 – 0,79)	0,20 (-0,25 – 0,73)
Anemia ferropriva (Não)	0,16 (-0,60 – 0,80)	0,07 (-0,77 – 0,76)	-0,01 (-0,82 – 0,73)
Anemia ferropriva	-0,84 (-1,24 – 0,51)	0,33 (-0,49 – 1,23)	-0,11 (-0,77 – 0,59)
WHZ (escores z)			
Anemia (Não)	0,78 (0,13 – 1,91)	0,49 (-0,38 – 1,47) *	0,23 (-0,42 – 1,13)
Anemia	0,82 (-0,14 – 1,49)	0,99 (0,21 – 1,90) *	0,23 (-0,34 – 1,28)
Anemia ferropriva (Não)	0,80 (0,00 – 1,78)	0,62 (-0,05 – 1,74)	0,23 (-0,41 – 1,16)
Anemia ferropriva	0,84 (-0,11 – 1,40)	1,08 (-0,21 – 1,71)	0,27 (-0,37 – 1,39)

Teste não paramétrico Kruskal-Wallis utilizado para comparar o estado nutricional das crianças com e sem anemia e anemia ferropriva, * p < 0,05 e ** p < 0,01. Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 4 – Ingestão de nutrientes da alimentação complementar, anemia e anemia ferropriva em crianças aos 15 meses (n = 132) do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil.

Nutrientes	Anemia		p valor*	Anemia Ferropriva		p valor*
	Sim (n = 53) Mediana (Q1 – Q3)	Não (n = 79) Mediana (Q1 – Q3)		Sim (n = 18) Mediana (Q1 – Q3)	Não (n = 114) Mediana (Q1 – Q3)	
Energia (Kcal/dia)	880,37 (720,07 – 1024,76)	817,54 (665,29 – 1020,31)	0,374	720,07 (606,46 – 975,46)	865,37 (704,14 - 1030,17)	0,070
Macronutrientes						
Proteína (g/dia)	37,32 (720,07 – 1024,76)	36,35 (665,29 – 1020,31)	0,534	36,56 (34,58 – 38,68)	36,75 (34,76 – 39,23)	0,686
Carboidrato (g/dia)	119,35 (114,15 – 123,30)	119,77 (115,84 – 123,62)	0,295	118,785 (114,87 – 124,68)	119,56 (114,59 – 123,43)	0,892
Lipídios(g/dia)	27,5 (26,25 – 29,30)	28,19 (26,65 – 29,45)	0,492	27,34 (25,25 – 28,93)	28,09 (26,63 – 29,52)	0,091
Fibras(g/dia)	3,26 (2,65 – 4,33)	2,93 (2,28 – 3,97)	0,097	2,98 (2,6 – 3,92)	3,17 (2,39 – 4,07)	0,887
Vitaminas						
Vitamina A (µg/dia)	898,37 (821,36 – 1016,21)	936,79 (886,67 – 1019,50)	0,085	939,83 (881,12 – 1095,31)	928,03 (853,16 – 1011,32)	0,336
Vitamina C (mg/dia)	94,37 (87,08 – 114,25)	99,22 (88,11 – 110,69)	0,985	95,5 (81,83 – 114,44)	98,71 (88,20 – 112,42)	0,650
Vitamina D (µg/dia)	5,56 (4,2 – 7,31)	4,92 (3,51 – 6,95)	0,149	5,83 (3,98 – 7,54)	5,19 (3,66 – 7,06)	0,362
Ácido fólico (µg/dia)	150,73 (135,19 – 166,65)	157,44 (139,99 – 174,25)	0,296	150,82 (133,58 – 173,92)	155,53 (139,99 – 170,98)	0,770
Vitamina B12 (µg/dia)	4,28 (4,04 – 4,57)	4,54 (4,25 – 4,76)	0,014	4,26 (3,88 – 4,60)	4,42 (4,12 – 4,74)	0,239
Minerais						
Ferro (mg/dia)	13,2 (10,27 – 14,53)	13,36 (11,66 – 14,78)	0,485	13,81 (10,91 – 16,07)	13,18 (11,23 – 14,62)	0,403
Zinco(mg/dia)	8,11 (7,25 – 9,46)	7,75 (6,77 – 9,16)	0,215	8,25 (7,30 – 10,05)	7,83 (6,94 – 9,19)	0,271

*Teste Mann-Whitney

Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 5 – Ingestão de nutrientes da alimentação complementar, anemia e anemia ferropriva em crianças aos 24 meses (n = 127) do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil

Nutrientes	Anemia			Anemia Ferropriva		
	Sim (n = 33) Mediana (Q1 – Q3)	Não (n = 94) Mediana (Q1 – Q3)	p valor*	Sim (n = 8) Mediana (Q1 – Q3)	Não (n = 119) Mediana (Q1 – Q3)	p valor*
Energia (Kcal/dia)	1060,26 (937,19 – 1163,53)	1084,48 (974,22 – 1206,10)	0,725	1087,31 (968,97 – 1141,43)	1082,67 (970,13 – 1204,38)	0,732
Macronutrientes						
Proteína (g/dia)	44,44 (41,58 – 46,13)	45,05 (42,83 – 46,80)	0,449	43,71 (40,76 – 44,86)	45,05 (42,71 – 47,04)	0,283
Carboidrato (g/dia)	154,63 (149,87 – 161,67)	163,68 (148,81 – 156,87)	0,194	155,925 (154,38 – 161,45)	153,6 (148,63 – 157,16)	0,077
Lipídios(g/dia)	32,6 (31,26 – 33,74)	33,44 (31,95 – 35,15)	0,117	32,265 (30,59 – 33,42)	33,27 (31,75 – 34,68)	0,283
Fibras(g/dia)	4,01 (3,82 – 4,56)	4,17 (3,78 – 4,67)	0,725	4,25 (3,90 – 4,98)	4,16 (3,80 – 4,62)	0,732
Vitaminas						
Vitamina A (µg/dia)	1002,1 (928,25 – 1054,94)	999,825 (930,38 – 1095,22)	0,958	1034,38 (880,17 – 1060,10)	999,7 (930,08 – 1089,20)	0,698
Vitamina C (mg/dia)	98,88 (88,02 – 114,17)	101,14 (90,24 – 114,59)	0,958	104,02 (93,40 – 119,38)	100,84 (89,27 – 114,43)	0,732
Vitamina D (µg/dia)	5,99 (3,94 – 7,52)	6,68 (5,33 – 7,70)	0,245	5,28 (3,67 – 7,22)	6,59 (5,21 – 7,69)	0,732
Ácido fólico (µg/dia)	174,89 (160,29 – 1983,50)	183,28 (168,47 – 195,83)	0,725	193,535 (161,11 – 201,99)	182,03 (166,81 – 193,76)	0,698
Vitamina B12 (µg/dia)	5,11 (4,94 – 5,23)	5,06 (4,82 – 5,33)	0,958	5,125 (4,67 – 5,47)	5,07 (4,86 – 5,32)	0,698
Minerais						
Ferro (mg/dia)	15,65 (14,66 – 17,37)	16,11 (15,08 – 17,12)	0,515	16,435 (14,95 – 17,38)	15,99 (14,80 – 17,12)	0,767
Zinco(mg/dia)	10,03 (8,86 – 11,15)	10,405 (9,27 – 11,09)	0,449	10,34 (8,2 – 11,13)	10,28 (9,14 – 11,09)	0,732

* Teste Mann-Whitney.

Fonte: dados da pesquisa

Ao testar as correlações entre Hb, consumo de vitamina B12, biomarcadores de inflamação intestinal e carga de patógenos (**TABELA 6**), observou-se: (1) correlação negativa entre Hb e MPO no 7^o mês ($r_s = -0,190$, $p = 0,003$) e (2) correlação positiva entre Hb e vitamina B12 no 15^o mês ($r_s = 0,260$, $p = 0,003$).

Tabela 6 – Correlações de Spearman (r_s) entre parâmetros de hemoglobina, vitamina B12, biomarcadores fecais de inflamação intestinal e carga total de patógenos no 7^o, 15^o e 24^o meses

Variáveis	7 meses								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Hemoglobina	-								
2. Vitamin B12	-	-							
3. Alfa-1-Antitripsina	-0,041	-	-						
4. Mieloperoxidase	-0,190*	-	0,280**	-					
5. Neopterinina	-0,160	-	0,176	0,303**	-				
6. Carga Total de Patógenos	-0,007	-	-0,079	-0,054	-0,080	-			
7. Carga de Bactérias	-0,039	-	-0,119	-0,013	-0,090	0,875**	-		
8. Carga de Protozoários	0,117	-	-0,012	-0,283**	-0,183	0,251**	0,032	-	
9. Carga de Vírus	-0,023	-	0,199*	0,222*	0,094	0,362**	0,053	0,022	-
Variáveis	15 meses								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Hemoglobina	-								
2. Vitamin B12	0,260**	-							
3. Alfa-1-Antitripsina	-0,175	0,000	-						
4. Mieloperoxidase	-0,143	-0,064	0,207*						
5. Neopterinina	-0,106	-0,106	0,173	0,310**					
6. Carga Total de Patógenos	-0,002	0,020	0,021	0,116	-0,052				
7. Carga de Bactérias	0,002	0,047	0,077	0,101	-0,049	0,806**	-		
8. Carga de Protozoários	0,032	-0,050	-0,062	0,014	0,036	0,546**	0,113	-	
9. Carga de vírus	-0,008	0,061	0,007	0,168	-0,034	0,471**	0,163**	0,176*	-
Variáveis	24 meses								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Hemoglobina	-								
2. Vitamin B12	0,007								
3. Alfa-1-Antitripsina	-0,136	0,034							
4. Mieloperoxidase	-0,045	-0,062	0,392**						
5. Neopterinina	0,040	0,070	0,188*	0,181					
6. Carga total de Patógenos	-0,041	-0,092	0,033	0,060	0,000				
7. Carga de Bactérias	-0,083	-0,033	0,040	0,012	-0,023	0,707**	-		
8. Carga de Protozoários	0,065	-0,161	0,019	0,107	-0,116	0,482**	0,097	-	
9. Carga de vírus	-0,080	0,167	-0,018	0,100	-0,095	0,140	-0,044	0,122	-

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Fonte: dados da pesquisa

Os modelos de regressão logística (**TABELA 7**) demonstraram que as crianças do sexo masculino apresentavam uma maior chance para a anemia ferropriva (OR = 4,57; IC 95% = 1,42 – 14,72) assim como, crianças com maior WAZ apresentaram maior chance para anemia (OR=1,32; IC 95% = 1,02 – 1,69).

Tabela 7 - Modelos de regressão logística binária para anemia e anemia ferropriva em crianças do estudo MAL-ED, Fortaleza-CE, Brasil, aos 15 e 24 meses

Variável	Anemia		Anemia Ferropriva	
	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)
Sexo				
Feminino	–	–	–	–
Masculino	1,43 (0,85 – 2,42)	1,37 (0,75 – 2,48)	0,29 (0,11 – 0,75)	4,57 (1,42 – 14,72)
Mês				
15 meses	1,91 (1,12 – 3,23)	0,53 (0,23 – 1,20)	1,91 (1,12 – 3,23)	0,54 (0,12 – 2,49)
24 meses	–	–	–	–
Biomarcador de inflamação intestinal				
Mieloperoxidase	1,00 (1,00 – 1,00)	1,00 (1,00 – 1,00)	1,00 (1,00 – 1,00)	1,00 (1,00 – 1,00)
Antropometria				
Peso por Idade (WAZ)	1,37 (1,10 – 1,72)	1,32 (1,02 – 1,69)	1,18 (0,86 – 1,63)	1,15 (0,79 – 1,68)
Ingestão de Vitamina B12	0,53 (0,35 – 0,81)	0,76 (0,44 – 1,31)	0,48 (0,27 – 0,88)	0,63 (0,27 – 1,44)
Carga Total de detecção de patógenos	0,98 (0,94 – 1,03)	1,01 (0,96 – 1,06)	1,00 (0,94 – 1,07)	1,05 (0,97 – 1,14)

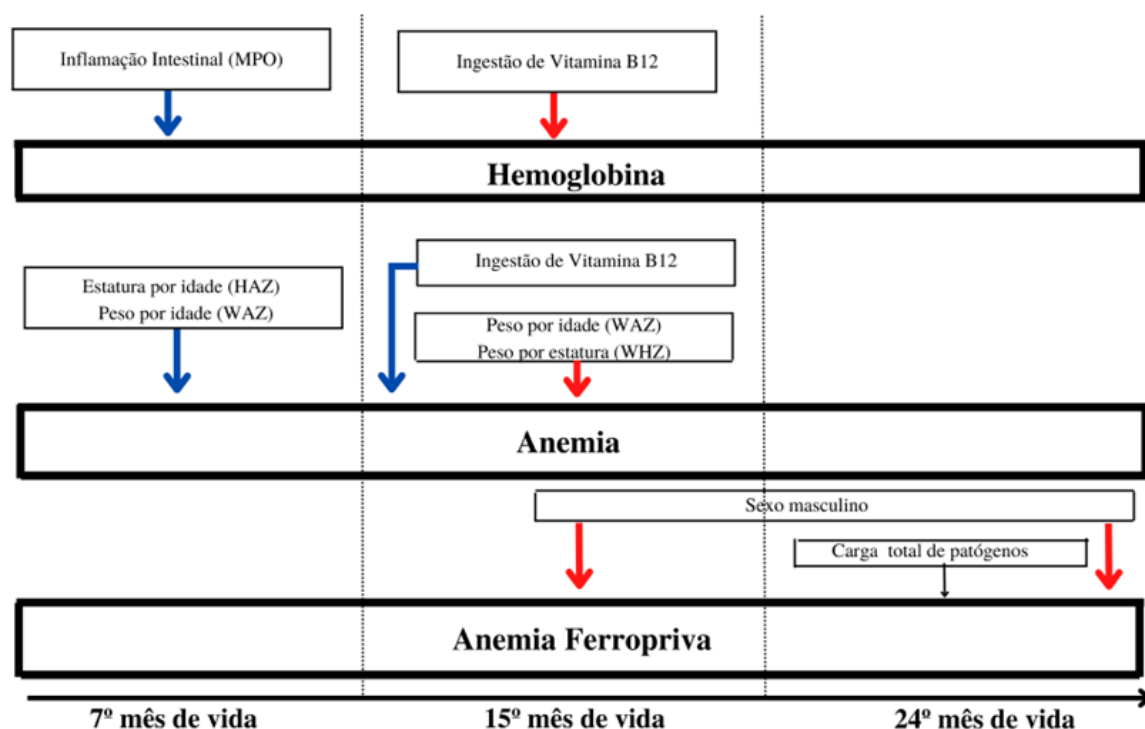
OR: *Odds Ratio* não ajustada; ORa: *Odds Ratio* Ajustada; IC: intervalo de confiança

Fonte: dados da pesquisa.

6 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo que serão discutidos estão sintetizados na (**FIGURA 11**) através de relações diretas de associações positivas e negativas entre as variáveis e os desfechos estudados, a anemia e a anemia ferropriva

Figura 11 – Principais resultados encontrados no estudo em relação a hemoglobina, anemia e anemia ferropriva nos três períodos estudados, 7^o, 15^o e 24^o mês. (Setas azuis indicam associações negativas, setas vermelhas indicam associações positivas e seta preta indica uma relação direta, porém sem significância estatística).



Fonte: Autoria própria (2022).

A anemia é um problema de magnitude global e durante a infância é um grave problema de saúde pública no Brasil, expondo aproximadamente 20% das crianças entre 6 e 23 meses às repercussões clínicas indesejáveis (ENANI, 2019). O presente estudo é relevante tendo em vista que a anemia durante os dois primeiros anos de vida tem uma alta prevalência no Brasil e no mundo (ENANI, 2019; STEVENS et al., 2022). As repercussões clínicas na anemia podem se manifestar de forma imediata durante a infância e também de forma tardia durante a vida adulta (GRANTHAM-MCGREGOR; ANI, 2001; WALKER, et al., 2011; ENGLE-STONE et al., 2020).

A inflamação intestinal pode ser prevalente em crianças com anemia durante os dois primeiros anos de vida e pode estar sendo subestimada tendo em vista a escassez de

estudos que realizam esta análise. São inexistentes estudos clínicos de abordagem prospectiva que abordem o potencial papel da enzima mieloperoxidase na inflamação intestinal relacionada à anemia durante alimentação complementar durante os dois primeiros anos de vida.

A prevalência de anemia das crianças do presente estudo decresceu ao longo dos tempos estudados, mas esteve acima dos números regionais e nacionais (ENANI, 2019). No entanto a hemoglobina aumentou durante o período estudado, manteve medianas semelhantes às de crianças brasileiras entre 6 e 59 meses de idade (ENANI, 2019) e esteve em consonância com a perspectiva mundial com uma melhora na média global dos níveis de hemoglobina. Contudo a anemia ainda é prevalente e preocupante em todo o mundo (STEVENS et al., 2022).

As crianças do sexo masculino apresentaram maior chance para a anemia ferropriva e este achado pode ser explicado pela maior velocidade de crescimento dos meninos em relação às meninas, necessitando de maior aporte de ferro pelo organismo em meninos menores de dois anos de idade. Pode ser também explicado por diferenças genéticas e práticas alimentares que não atendem a necessidade de consumo do mineral (ANDRE et al., 2018). Estudos brasileiros e internacionais com crianças menores de dois anos com diferentes desenhos, também mostram uma maior prevalência de anemia ferropriva em crianças do sexo masculino em relação a crianças do sexo feminino (THANE; BATES; PRENTICE, 2013; MAGALHÃES et al., 2018; RIBEIRO; FAZENDA, 2022).

É importante considerar que o leite materno, quando ofertado exclusivamente, atende as necessidades nutricionais até o 6º mês. Nessa idade, os bebês crescem simultaneamente com uma expansão ao volume de sangue e conseqüentemente os estoques de ferro corporal tendem a esgotar devido a uma maior demanda (NEVES; SILVA; MORAIS, 2005).

No Brasil, a prevalência de aleitamento materno em crianças menores de 2 anos é de 60,3%, chegando a atingir 84,8% entre o 6º mês e 8º mês de vida (ENANI, 2019). Após o primeiro ano de vida, entre o 12º e 15º mês, a prevalência de aleitamento materno continuado atinge 52,1% e 58,6%, no Brasil e no Nordeste respectivamente. Em uma perspectiva geral, a prevalência de aleitamento materno entre crianças menores de 2 anos no Brasil e no Nordeste são importantes, atingindo 60,3% e 63,2%, respectivamente (ENANI, 2019).

A anemia esteve mais presente no 7º mês que poderia ser explicado é que nesse período houve uma maior carga total de patógenos e de protozoários. Isso pode

repercutir em uma menor absorção de micronutrientes durante o aleitamento parcial e alimentação complementar. Contudo, não foi possível encontrar esta relação estatisticamente, embora carga total de detecção de patógenos tenha sido inserida nos modelos de regressão. A carga total e a carga de protozoários não conseguiram se adequar aos modelos de regressão, assim não fizeram parte dos mesmos.

Observou-se também menos anemia no 24^o mês, menor carga total de patógenos e menor carga de protozoários, entretanto não se observou correlação com a hemoglobina. Outros estudos brasileiros realizados em distintas regiões do país, também não conseguiram identificar essa correlação (MIOTTO et al., 2014; GOMES et al., 2016; MARIOT NETO; BRITO; PAVANELLI, 2016; PEDRAZA, 2016).

No entanto, as infecções por parasitas intestinais podem agravar o quadro anêmico, pois a carga parasitária e a capacidade degenerativa dos parasitos, que consiste na absorção de nutrientes ou mesmo sangue do hospedeiro, geram hemorragia na mucosa que pode ser um fator determinante para o desenvolvimento de anemia (ALBUQUERQUE, 2014; SANTOS; SCHERER; SANTOS, 2014; MARIOT NETTO; BRITO; PAVANELLI, 2016).

O Ministério da Saúde cita que as parasitoses intestinais não são causas diretas da anemia, contudo podem agravar as condições de saúde das crianças anêmicas, assim são recomendadas intervenções para prevenção e controle de doenças parasitárias como a ancilostomíase e a esquistossomose (BRASIL, 2013).

Quanto a antropometria, identificou-se o comprometimento no crescimento linear e menores pesos em crianças com anemia no 7^o mês de vida. Efetivamente, as crianças com melhores índices antropométricos não tinham anemia neste período. Acredita-se que o aleitamento materno, embora parcial, tenha contribuído de forma positiva neste período, embora não se tenha conseguido criar modelos de análise com essas variáveis.

Embora não se tenha conseguido responder a associação entre antropometria, anemia e carga de patógenos no 7^o mês, a carga total de patógenos e a carga parasitária foram as maiores detectadas em todo o tempo do estudo, o que não deixa de ser um achado relevante.

A baixa estatura para a idade pode estar associada a condições socioeconômicas precárias, saúde e nutrição maternas deficientes e infecções frequentes em crianças menores de dois anos (WHO, 2021). O comprometimento do crescimento linear durante a primeira infância tem como principais fatores de risco a ingestão alimentar insuficiente e doenças infecciosas (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2014). Os

déficits de crescimento e desenvolvimento são mais prevalentes em crianças que vivem em condições ambientais precárias e podem ser consequência, pelo menos em parte, do comprometimento da função intestinal (MCCORMICK et al., 2017). Contudo, outros fatores podem estar relacionados, entre eles a anemia.

No Brasil a prevalência de baixa altura para idade em crianças menores de 5 anos atinge 7,0% e alcança 6,2% no Nordeste, sendo mais prevalente no sexo masculino 7,8% que no sexo feminino 6,1% (ENANI, 2019).

A coorte MAL-ED mostrou que infecção subclínica e a quantidade de patógenos, particularmente *Shigella*, *E coli* enteroagregativa, *Campylobacter* e *Giardia*, tiveram uma associação negativa substancial com o crescimento linear, que foi sustentado durante os primeiros 2 anos de vida (MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS, 2018). A coorte MAL-ED também identificou fatores relacionados ao baixo crescimento e parâmetros de anemia na primeira infância em crianças até o 5^a ano de vida. Os achados foram: o receptor da transferrina foi positivamente relacionado com HAZ e WAZ; a hemoglobina foi positivamente relacionada com HAZ e a ferritina foi negativamente relacionada com HAZ (RICHARD et al., 2019).

Outro achado relevante do presente estudo relacionado à antropometria foi o maior Z score para WAZ e WHZ em crianças com anemia no 15^o mês de vida. As crianças com maiores indicadores antropométricos WAZ e WHZ no 15^o mês apresentaram maior chance para anemia. No Brasil, a prevalência de maior peso para idade é de 5% e no Nordeste é de 6,1% (ENANI, 2019).

Pode-se sugerir que as crianças com anemia do presente estudo que estavam com maiores Z score para peso por idade tinham uma ingestão alimentos com baixa qualidade nutricional e maior densidade energética. Isso foi confirmado por Andrade et al., (2022) que avaliaram o consumo alimentar na mesma população da coorte brasileira MAL-ED. Observou-se que 99 % das crianças consumiam bebidas açucaradas aos 9 meses, e aos 15 e 24 meses este percentual de consumo chegava a 100%.

A alta ingestão energética é uma das principais preocupações durante a introdução de alimentos complementares uma vez que pode ter relevância em relação a programação metabólica e o desenvolvimento de obesidade e comorbidades associadas mais tardiamente na vida adulta (ROMULUS-NIEUWELINK, 2011).

A obesidade em crianças com anemia tem se mostrado presente em estudos transversais em distintas regiões do Brasil (ORELLANA et al., 2006; ALMEIDA; OLIVEIRA, 2007; RODRIGUES et al., 2011). A oferta precoce de alimentos com baixa concentração de

vitaminas e minerais e elevada densidade calórica conduz a repercussões patológicas à saúde e aumenta o risco da criança se tornar um adulto com excesso de peso com de doenças cardiovasculares (BRASIL, 2013).

Contudo a adição de micronutrientes em alimentos como cereais matinais, bebidas açucaradas, bebidas em pó, sucos de frutas, molhos e cubos de caldo, entre outros, é intensamente promovida no mercado global e como consequência pode haver um aumento de consumo devido ao teor elevado de açúcar, gordura e sal (KROKER-LOBOS et al., 2022).

Quanto à ingestão dietética, a menor ingestão dietética de vitamina B12 por crianças com anemia pode fomentar discussões sobre a necessidade de uma atenção maior a ingestão dessa vitamina durante os dois primeiros anos de vida da criança. O estudo de Maciel et al.,2018 identificou um baixo consumo de carnes e ovos das mesma crianças da coorte do presente estudo. Acredita-se que a menor ingestão dietética de vitamina B12 das crianças anêmicas do presente estudo pode ser explicada pela análise apresentada por Maciel et al.,2018.

A deficiência de vitamina B12 em crianças nos dois primeiros anos de vida em condições sociais vulneráveis pode ser devido à baixa ingestão de alimentos fontes, como carnes e ovos (CERDÓ, DIÉGUEZ ,CAMPOY, 2019), o que pode justificar o menor consumo de vitamina B12 em crianças com anemia no 15^o mês. A literatura cita que uma ingestão comprometida de vitamina B12 é a principal causa de sua deficiência (GUÉANT-RODRIGUEZ; ALPERS, 2022; JEREMIAS et al., 2023)

Uma dieta com baixo teor de vitamina B12 é um dos fatores etiológicos da anemia macrocítica, que se caracteriza por hemácias grandes, porém com baixa quantidade de hemoglobina, conhecida como megaloblastose (SHENG et al., 2019) ou macrocitose e é implicada em um espectro de distúrbios cognitivos e neuropsiquiátricos (HOFFBRAND; MOSS,2018; GREEN; MILLER, 2022).

O estudo de Maciel et al.,2018 também idenditifiou mesma população da coorte MAL-ED que a frequência diária das refeições era adequada, contudo a diversidade alimentar não era satisfatória, pois as crianças apresentavam baixo consumo de alimentos de origem vegetal, entre eles os vegetais folhosos verde escuros e o feijão, como também apresentavam inadequado consumo de alimentos de origem animal, como carne e ovos.

A deficiência de vitaminas e minerais é citada como um dos quatros tipos de desnutrição pela OMS (WHO,2021). A deficiência sérica de vitamina B12 pode estar presente em todas as faixas etárias (GREEN; MILLER,2022) e no Brasil, pelo menos uma

em cada dez crianças brasileiras (14,2%), de até 5 anos, tem deficiência sérica de vitamina B12 (ENANI, 2019).

A menor ingestão dietética de vitamina B12 pelas crianças anêmicas do presente estudo foi um achado inédito considerando que há lacunas de estudos no Brasil que analisam o consumo de vitamina B12 por lactentes com e sem anemia durante os dois primeiros anos de vida. Essa análise é importante, pois segundo Santos; Brito; Pereira (2016) a deficiência de vitamina B12 pode refletir negativamente na neuroplasticidade e cognição em crianças anêmicas.

A carência de vitamina B12 em crianças menores de dois anos pode estar relacionada à baixa ingestão ou má absorção desta vitamina (GARCIA-CASAL; PASRICAB, 2019). A vitamina B12 possui propriedades fisiológicas exclusivas, incluindo uma ampla via para sua absorção e assimilação, necessitando de boa função ácida gástrica e intestinal terminal preservada, uma via entero - hepática e várias proteínas de ligação (GREEN; MILLER, 2022).

Uma grande porcentagem de gestantes apresenta ingestão dietética insuficiente de nutrientes essenciais necessários para atender as demandas nutricionais durante a gravidez, principalmente de ferro, folato e vitamina B12, aumentando o risco de anemia na criança (AYENSU, et al., 2020).

A alimentação de lactentes e pré-escolares no Brasil é comumente caracterizada pelo baixo consumo de carnes, frutas e verduras; alto consumo de leite de vaca e pelo preparo inadequado de mamadeiras; bem como ingestão precoce e elevada de frituras, balas/doces, bebidas açucaradas e sal (MELLO; BARROS; DE MORAIS, 2016). Atualmente, no Brasil, a prevalência de consumo de ovos e carnes é de 71,4% em crianças entre o 6º e 23º mês de vida (ENANI, 2019).

Ainda em relação à dieta, não houve diferença significativa quanto ao consumo de macronutrientes, micronutrientes e minerais entre crianças anêmicas e não anêmicas, destacando-se o ferro, o zinco, a vitamina A e a vitamina C que são importantes nutrientes e minerais envolvidos na fisiopatogenia das anemias. Este achado nos conduz a acreditar que tão importante quanto ingerir micronutrientes é garantir a biodisponibilidade, absorção e aproveitamento destes nutrientes na dieta (ZINÖCKER, LINDSETH, 2018) destas crianças, dado o percentual de crianças com anemia no estudo, em especial no 7º mês.

Neste sentido, é importante discutir aspectos fundamentais como a disbiose e inflamação intestinal, que possivelmente comprometam a absorção de nutrientes e minerais (PEREIRA; GOUVEIA, 2019). A disbiose é uma situação clínica reversível moldada pelo estilo de vida, tendo como principais determinantes a ingestão dietética de xenobióticos, aditivos alimentares, conservantes, edulcorantes, infecção por enteropatógenos, obesidade e desnutrição (LEVY et al., 2017; PEREIRA; GOUVEIA, 2019).

A inflamação intestinal por sua vez é capaz de alterar respostas imunes da mucosa e a absorção de nutrientes (PETERSON; ARTIS, 2014). Os aditivos alimentares alteram a microbiota intestinal, conduzem à inflamação intestinal (LOUZADA et al, 2015) e podem ter contribuído assim para a alteração de biomarcadores de inflamação intestinal (ZINÖCKER; LINDSETH, 2018; PEREIRA; GOUVEIA, 2019).

A inflamação intestinal pode ocasionar atrofia das vilosidades reduzindo assim a área de superfície epitelial e consequente diminuição da absorção de nutrientes (DENNO; VANBUSKIRK; NELSON, 2014; ZINÖCKER, LINDSETH, 2018). Os primeiros anos de vida são de rápido desenvolvimento e alterações imunológicas, fisiológicas gastrointestinais e na microbiota intestinal ocorrem rapidamente (SELA; MILLS, 2010; BATTERSBY; GIBBONS, 2013).

Considerando que características de saúde intestinal podem estar associadas à presença de anemia através de biomarcadores fecais de inflamação intestinal. Dentre os achados do presente estudo, observa-se a correlação negativa entre inflamação intestinal através do marcador MPO e a hemoglobina.

São inexistentes estudos clínicos de abordagem prospectiva que abordem o potencial papel da enzima mieloperoxidase na inflamação intestinal em crianças com anemia durante a alimentação complementar nos dois primeiros anos de vida.

Neste cenário, observou-se que a carga de patógenos decresceu com o passar dos meses na nossa população sendo maior a carga no 7º mês quando houve uma correlação negativa entre MPO e hemoglobina nas crianças. Embora não se tenha observado correlação entre a carga de patógenos e a hemoglobina, acredita-se que além de fatores genéticos, a presença de enteropatógenos pode ter colaborado com um menor nível de hemoglobina nestas crianças, considerando também que neste período houve mais anemia e anemia ferropriva entre as crianças do estudo.

Os resultados mostram a importância de uma investigação mais ampla, além da dietética, sobre as possíveis causas da anemia. Pode-se destacar a vitamina B12 como a principal associação dietética encontrada. Os achados mostraram que, embora houvesse uma ingestão similar de ferro, zinco, ácido fólico e outros nutrientes e minerais, em crianças anêmicas como em crianças não anêmicas, a ingestão de vitamina B12 foi significativamente associada a menor hemoglobina em crianças anêmicas no 15º mês. Isso nos conduz a novas discussões sobre a necessidade do consumo de alimentos ricos em vitamina B12 durante a alimentação complementar bem como otimizar sua absorção. Segundo Ng'eno et al., (2017), melhorar as práticas de alimentação complementar, incluindo o consumo de fontes de vitamina B12, como alimentos de origem animal pode auxiliar no controle e decréscimo da deficiência da vitamina.

Importante ressaltar que a ingestão de ferro foi similar nas crianças anêmicas e não anêmicas do presente estudo. Acredita-se que isto se deve a fortificação e enriquecimento de alimentos e produtos alimentares com ferro (WHO, 2006). Deve-se destacar que estas fortificações ocorrem em alimentos ultra processados, que geralmente contém baixo teor de vitaminas e elevado teor de açúcar, sódio e aditivos alimentares que são gatilhos para disbiose e consequente inflamação intestinal (VARGAS; ABREU; KRAVCHYCHYN, 2021).

Nem sempre o consumo adequado de produtos alimentícios enriquecidos com ferro e ácido fólico pode garantir a ausência de anemia na presença de determinadas situações, como infecções parasitárias e inflamação intestinal. A literatura relata que um maior consumo de ferro decorrente de fortificação de alimentos além de aumentar o risco de diarreia pode gerar repercussões negativas como disbiose e inflamação intestinal (PAGANINI et al., 2017; JAEGGI et al., 2015).

É importante ressaltar que o comprometimento da absorção de nutrientes como o ferro, vitamina B12, ácido fólico, vitamina A e outros nutrientes e minerais durante inflamação intestinal pode determinar repercussões clínicas em curto prazo em crianças. Assim, torna-se importante avaliar em estudos mais aprofundados aspectos como a disbiose e inflamação intestinal em crianças durante a alimentação complementar.

Destaca-se que uma única estratégia poderá ter pouco sucesso se outras ações não forem implementadas simultaneamente na prevenção e tratamento da anemia (OSÓRIO, 2002). Mais pesquisas necessitam ser realizadas para apoiar a necessidade de

avaliar a inflamação intestinal em crianças anêmicas menores de dois anos, como também monitorar o menor consumo de fontes alimentares de vitamina B12.

Algumas limitações do presente estudo devem ser mencionadas. Embora condições sociais, econômicas e sanitárias de comunidades de baixa renda do presente estudo sejam similares à demais regiões brasileiras, os dados encontrados não são representativos de todas as crianças menores de 2 anos do Brasil. A limitação do estudo foi a quantidade de crianças estudadas que tinham dados de anemia, porque, caso o número de crianças fosse maior, acredita-se que mais associações e correlações poderiam ter sido encontradas.

O presente estudo usou uma abordagem inovadora para avaliar variáveis associadas com a anemia, como a carga de patógenos e biomarcadores fecais de inflamação intestinal nos dois primeiros anos de vida até hoje não mostrados em estudos longitudinais brasileiros.

Entre as potencialidades do estudo encontra-se a coleta de dados prospectivos com recordatórios alimentares de 24 horas, o que permitiu a coleta de 14 recordatórios de ingestão de nutrientes por criança e com correção dos vieses de mensuração. Um maior número de recordatório alimentar de 24 horas coletados possibilita uma maior representatividade da ingestão de nutrientes em diferentes dias (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009). Os estudos brasileiros existentes que avaliaram ingestão de nutrientes em crianças menores de dois anos analisaram uma quantidade menor de recordatórios ou tiveram delineamentos distintos (ASUNÇÃO et al., 2007; ALMEIDA; OLIVEIRA, 2007; FERREIRA et al., 2011; ENANI, 2019). Outra potencialidade do estudo. Entre os destaca-se a correlação negativa inédita entre hemoglobina e inflamação intestinal.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo a anemia diminuiu ao longo dos períodos estudados e a anemia por deficiência de ferro foi um tipo de anemia encontrada através de análises de parâmetros bioquímicos. Embora não tenhamos analisado a presença de anemia por deficiência de vitamina B12 através de parâmetros bioquímicos, a ingestão nutricional de vitamina B12 foi analisada e foi a principal associação dietética encontrada em crianças com anemia. A ingestão de vitamina B12 das crianças com anemia mostrou-se associada negativamente com hemoglobina.

A ingestão dos demais nutrientes não foi diferente entre crianças com e sem anemia. Acreditou-se que a absorção desses nutrientes poderia estar comprometida devido a inflamação intestinal presente e detectada através do biomarcador fecal MPO.

As crianças anêmicas do nosso estudo apresentaram maiores Z score para peso por idade. Um melhor acompanhamento de oscilações do peso em crianças com anemia pode ser importante, considerando que nem sempre a ingestão quantitativa de energia é acompanhada pela ingestão adequada de micronutrientes como vitaminas e minerais.

No modelo de regressão da anemia ferropriva as crianças do sexo masculino mostraram maior chance de ter anemia por deficiência de ferro, o que condiz com a literatura já existente.

A hipótese que a anemia estaria associada a fatores além dos dietéticos foi comprovada: crianças com anemia apresentaram menor consumo de vitamina B12 e crianças com anemia apresentaram maior chance para anemia.

A hipótese que a anemia estaria associada à inflamação intestinal também foi confirmada de forma inédita, a MPO mostrou-se associada negativamente a hemoglobina. Contudo a hipótese que a anemia estaria associada a carga de patógenos foi refutada. A carga total de patógenos não se mostrou correlacionada a nenhuma variável e não apresentou relevância nos modelos de regressão.

Para finalizar, seria oportuno e interessante tornar acessível a incorporação de novos testes para a saúde pública quanto ao monitoramento parâmetros de biomarcadores fecais de inflamação intestinal como a MPO em crianças anêmicas durante os dois

primeiros anos de vida considerando a imaturidade do sistema imune intestinal nessa fase da vida.

Apoio financeiro

O Projeto Etiologia, Fatores de Risco e Interações de Infecções Entéricas e Desnutrição e as Consequências para a Saúde e Desenvolvimento Infantil (MAL-ED) é realizado como um projeto colaborativo apoiado pela Fundação Bill & Melinda Gates, a Fundação para a Institutos Nacionais de Saúde e Institutos Nacionais de Saúde, *Fogarty International Center*. Agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através de bolsas.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, N; ISMAIL, N; JALAL, N.A; RADIN, F.M; OTHMAN, R.; ARIFIN, A.S.K; KAMARUDDIN, M.A; JAMAL, R. Prevalência de anemia e fatores de risco associados entre os participantes da Coorte da Malásia. **Ana. hematol.**, v.99, p.2521–2527, 2020.
- ADJAGBA, P.M; HABIB, G; ROBITAILLE, N; PASTORE, Y; RABOISSOM, M.J; CURNIER, D; DAHDAH, N. Impact of sickle cell anaemia on cardiac chamber size in the paediatric population. **Cardiology in the Young**, v.27, n.5, p.918–924, 2017.
- AFMAN, L.A; VAN DER PUT, N.M; THOMAS, C.M; TRIJBELS, J.M; BLOM, H.J. Reduced vitamin B12 binding by transcobalamin II increases the risk of neural tube defects. **QJM**, v.94, n.3, p.159-66, 2001.
- AGOSTONI, C; DECSI, T; FEWTRELL, M; GOULET, O; KOLACEK, S; KOLETZKO, B; MICHAELSEN, K.F; MORENO, L; PUNTIS, J; RIGO, J; SHAMIR, R; SZAJEWSKA, H; TURCK, D; VAN GOUDOEVER, J. Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v.46, n.1, p.99-110, 2008.
- AGOSTONI, C; BRAEGGER, C; DECSI, T; KOLACEK, S; KOLETZKO, B; MICHAELSEN, K.F; MIHATSCH, W; MORENO, L.A; PUNTIS, J; SHAMIR, R; SZAJEWSKA, H; TURCK, D; VAN GOUDOEVER, J. ESPGHAN-Comitê de Nutrição. Aleitamento materno: um comentário do Comitê de Nutrição ESPGHAN. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v.49, p. 112-125, 2009.
- ALBUQUERQUE, S.D. Prevalência de anemia ferropriva e condicionantes demográficos e antropométricos em pré-escolares no município de Marau/RS [dissertação]. Porto Alegre (RS): **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Faculdade de Medicina; p.75, 2014.
- ALEMAYEHU, M; MESKELE, M; ALEMAYEHU, B; YAKOB, B. Prevalence and correlates of anemia among children aged 6-23 months in Wolaita Zone, Southern Ethiopia. **PLoS One**, v.14, n.3, 2019.
- ALLALI, S; BROUSSE, V; SACRI, A.S; CHALUMEAU, M, MONTALEMBERT M. Anemia in children: prevalence, causes, diagnostic work-up, and long-term consequences. **Expert Review Of Hematology**, p.1747-4094,2017.
- ALMEIDA, C.A.N; OLIVEIRA, J.E.D. Jardinópolis sem anemia, primeira fase: avaliação antropométrica e do estado nutricional de ferro. **Rev Paul Pediatr**, v.25, n.3, p.254-7,2007.
- ANDRADE, A.D.O; DE SÁ, A.R.N; BEZAGIO, R.C. Prevalência de Parasitoses Intestinais em crianças de um centro municipal de educação infantil de Campo Mourão, Pr / Brasil. **Revista Uningá**, v.29, n.3, 2017.

ANDRADE, E.D.O; REBOUÇAS, A,S; FILHO, J.Q; AMBIKAPATHI, R; CAULFIELD, L.E; LIMA, A.Â.M; MACIEL, B.L.L. Evolution of infant feeding practices in children from 9 to 24 months, considering complementary feeding indicators and food processing: Results from the Brazilian cohort of the MAL-ED study. **Matern Child Nutr**, v.4, n.13413, 2022

ANDRE, H.P; SPERANDIO, N; SIQUEIRA, R.L; FRANCESCHINI, S.C.C; PRIORE, S.E. Indicadores de insegurança alimentar e nutricional associados à anemia ferropriva em crianças brasileiras:uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**, v.23, p.1159-1167,2018.

ANGEL, A. Diagnóstico clínico e diferencial da deficiência de ferro. In: BRAGA J.A.P; AMANCIO, O.M.S; VITALLE, M.S.S. **O Ferro e a Saúde das Populações**, p.160-164, 2006.

ARAÚJO, A.C.T; CAMPOS, J.A.D.B. Subsídios para a avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes por meio de indicadores antropométricos. **Aliment Nutr**, v.19, n.2, p.219-225, 2008.

ARTIS, D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. **Nat Rev Immunol**, v.8, p.411–420,2008.

AYENSU, J; ANNAN, R; LUTTERODT, H; EDUSEI, A; PENG, L,S. Prevalence of anaemia and low intake of dietary nutrients in pregnant women living in rural and urban areas in the Ashanti region of Ghana. **PLoS One**, v.15, n.1, 2020.

AYOYA, M.A; SPIEKERMANN-BROUWER, G.M; STOLTZFUS, R.J; NEMETH, E; HABICHT, J.P; GANZ, T; RAWAT, R; TRAORÉ, A.K; GARZA, C. Alpha 1-acid glycoprotein, hepcidin, C-reactive protein, and serum ferritin are correlated in anemic schoolchildren with *Schistosoma haematobium*. **Am J Clin Nutr**, v.91, n.6, p.1784-1790. 2010.

AZEREDO, C.M; COTTA, R.M.M; SILVA, L.S; FRANCESCHINI, S.C.C; SANT'ANNA, L.F.R RIBEIRO, R.C.L; Implantação e impacto do Programa Nacional de Suplementação de Ferro no município de Viçosa - MG. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**, v. 16, n. 10,2011.

BALARAJAN, Y; RAMAKRISHNAN, U; ÖZALTIN, E; SHANKAR AH, SUBRAMANIAN SV. Anaemia in low-income and middle-income countries. **Lancet**, v.378, n. 9809, p. 2123-2135, 2011.

BARRIER, A; WILLY, S; SLONE, J.S. Extramedullary hematopoiesis of the liver in a child with sickle cell disease: a rare complication. **Pediatr Int**, v.57, n.4, p.770–772,2015.

BATTERSBY, A.J; GIBBONS, D.L. The gut mucosal immune system in the neonatal period. **Pediatr Allergy Immunol**, v.24, p.414–42, 2013.

BEARD, J.L; DAWSON, H; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutr Ver**, v.54, p.295-317, 1996.

BELACHEW, A; TEWABE, T. Under-five anemia and its associated factors with dietary diversity, food security, stunted, and deworming in Ethiopia: systematic review and meta-analysis. **Syst Rev**, v.9; n.1, p.31,2020.

BEUMER, C; WULFERINK, M; RAABEN, W; FIECHTER, D; BRANDS, R; SEINEN, W. Calf intestinal alkaline phosphatase, a novel therapeutic drug for lipopolysaccharide (LPS)-mediated diseases, attenuates LPS toxicity in mice and piglets. **J Pharmacol Exp Ther**, v.307, p.737–44, 2003.

BLACK, R.E; VICTORA, C.G; WALKER, S.P; BHUTTA, Z.A; CHRISTIAN, P; DE ONIS, M; UAUY, R. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. **The Lancet**, v.382, n.9890), p. 427-451,2013.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde**: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, p.72, 2011.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Saúde da criança: acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil**. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Dez passos para uma alimentação saudável: guia alimentar para crianças menores de dois anos: um guia para o profissional da saúde na atenção básica** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2 ed – Brasília: Ministério da Saúde, p.72,2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Promoção da Saúde. **Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Primária à Saúde, Departamento de Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019. 265 p.: Il.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais**. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, p.24, 2013.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. NutriSUS – **Estratégia de fortificação da alimentação infantil com micronutrientes (vitaminas e minerais) em pó: manual operacional**. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.

BÜHRER, C; GENZEL-BOROVICZÉNY, O; JOCHUM, F; KAUTH, T; KERSTING, M; KOLETZKO, B; MIHATSCH, W; PRZYREMBEL, H; REINEHR, T; ZIMMER, P. Recommendations of the Nutrition Committee of the German Pediatric Society. **Konsensuspapiere**, v.162, p.527-538, 2014.

BUZZARD M. 24-hours dietary recall and food record methods. In: Willett WC. **Nutritional epidemiology**. 2 ed. Oxford: Oxford University Press, p. 50-73,1998.

CANAUD, C. Fortificação com ferro. In: Fortificação de Alimentos. **Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro** – REDETEC, p.12-15,2022.

CAROLI, M.; VANIA, A.; VERGA, M.C.; DI MAURO, G.; BERGAMINI, M.; CUOMO, B.; D'ANNA, R.; D'ANTONIO, G.; DELLO IACONO, I.; DESSÌ, A.; DORIA, M.; FANOS, V.; FIORE, M.; FRANCAVILLA, R.; GENOVESI, S.; GIUSSANI, M.; GRITTI, A.; IAFUSCO, D.; LEONARDI, L.; MINIELLO, V.L.; MIRAGLIA DEL GIUDICE, E.; PALMA, F.; PASTORE, F.; SCOTESI, I.; SIMEONE, G.; SQUICCIARINI, M.; TEZZA, G.; TROIANO, E.; UMANO, G.R. Recommendations on Complementary Feeding as a Tool for Prevention of Non-Communicable Diseases (NCDs)—Paper Co-Drafted by the SIPPS, FIMP, SIDOHAD, and SINUPE Joint Working Group. **Nutrients**, v.14,p.257, 2022.

CAULFIELD, L.E; BOSE, A; CHANDYO, R.K; NESAMVUNI, C; DE MORAES, M.L; TURAB, A; PATIL, C; MAHFUZ, M; AMBIKAPATHI, R; AHMED, T; MAL-ED Network Investigators. Infant feeding practices, dietary adequacy, and micronutrient status measures in the MAL-ED study. **Clin Infect Dis**, v.59, n.4, p.248-254, 2014.

CECILIANI, F; LECCHI, C. The Immune Functions of α_1 Acid Glycoprotein. **Curr Protein Pept Sci**, v.20, n.6, p.505-524, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. **CDC criteria for anemia in children and women of childbearing age** *MMWR* Morb. Mortal. Weekly. v. 38, p. 400–404,1989.

CERDÓ, T; DIÉGUEZ, E; CAMPOY, C. Infant growth, neurodevelopment and gut microbiota during infancy: which nutrients are crucial? **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.22, n.6, p.434-441, 2019.

CHANDRA, J; DEWAN, P; KUMAR, P; MAHAJAN, A; SINGH, P; DHINGRA, B; RADHAKRISHNAN, N; SHARMA, R; MANGLANI, M; RAWAT, A.K; GUPTA, P; GOMBER, S; BHAT, S; GAIKWAD, P; ELIZABETH, K.E; BANSAL, D; DUBEY, A.P; SHAH, N; KINI, P; TREHAN, A; DATTA, K; BASAVRAJA, G.V; SAXENA, V; KUMAR, R.R. Diagnosis, Treatment and Prevention of Nutritional Anemia in Children: Recommendations of the Joint Committee of Pediatric Hematology-Oncology Chapter and Pediatric and Adolescent Nutrition Society of the Indian Academy of Pediatrics. **Indian Pediatr**, v.59, n.10, p.782-801, 2022.

CHAPARRO, C.M; SUCHDEV, P.S. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries. **Ann N Y Acad Sci**, v.1450, n.1, p.15-31, 2019.

CHELAKKOT, C; GHIM, J; RYU, S.H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. **Exp Mol Med**, v.50, n.8, p.1-9, 2018.

CHITTARANJAN, Y. Vitamin B12: An Intergenerational Story. **Nestle Nutr Inst Workshop Ser**, v.93, p.91-102,2020.

CHOWANADISAI, W; LÖNNERDAL, B. Alpha (1) antitrypsin and antichymotrypsin in human milk: origin, concentrations, and stability. **Am J Clin Nutr**, v.76, n.4, p.828-33, 2002.

COOK, J.D; BAYNES, R.D; SKIKNE, B.S. Iron deficiency and the measurement of iron status. **Nutr Res Rev**, v.5, p.189-202, 1992.

CORNICK, S; TAWIAH, A; CHADEE, K. Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. **Tissue Barriers**, v.3, 2015.

COSTA, T.D; ANDRADE, D.F.R; BARROS, V.C; REIS, D; FREITAS, J. Análise de enteroparasitoses em crianças em idade pré-escolar em município de Santa Catarina, Brasil. **Rev. Pre. Infec e Saúde**, v.1, n.2,2015.

DE OLIVEIRA, T.S; DA SILVA, M.C; SANTOS, J.N; ROCHA DDA, S; ALVES, C.R; CAPANEMA, F.D; LAMOUNIER, J.A. Anemia among preschool children--a public health problem in Belo Horizonte, Brazil. **Cien Saude Colet**, v.19, n.1, p.59-66, 2014.

DE PAULA, R; FISBERG, M. The use of sugar fortified with iron tris-glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. **Arch Latinoam Nutr**, v.51, p.54-59, 2001.

DEBAUN, M.R; KIRKHAM, F.J. Central nervous system complications and management in sickle cell disease. **Blood**, v.127, n.7, p.829–838, 2016.

DELLA LUCIA, C.M; NOVAES, J.F; SANT'ANA, H.M.P. Os Desafios da Fortificação de Alimentos. **B. Ceppa**, v. 30, n. 2, p. 197-208, 2012

DENNO, D.M; VANBUSKIRK, K; NELSON, Z.C; Musser CA, Hay Burgess DC, Tarr PI. Use of the lactulose to mannitol ratio to evaluate childhood environmental enteric dysfunction: A systematic review. **Clin Infect Dis**, v.4, p.S213-9,2014.

DEVALIA, V; HAMILTON, M.S; MOLLOY, A.M; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. **Br J Haematol**, v.166, n.4, p.496-513, 2014.

DINC, M.E; DALGIC, A; ULUSOY, S; DIZDAR, D; DEVELIOGLU, O; TOPAK, M. Does iron deficiency anemia affect olfactory function? **Acta Otolaryngol**, n.136, v.7, p.754-7,2016.

DIPASQUALE, V; ROMANO, C. Complementary feeding: new styles versus old myths. **Minerva Med**, v.111, n.2, p.141-152,2020.

ENGLE-STONE, R; AARON, G.J; HUANG, J; WIRTH, J.P; NAMASTE, S.M.L; WILLIAMS, A.M; PEERSON, J.M; ROHNER, F; VARADHAN, R; ADDO, O.Y; TEMPLE, V; RAYCO-SOLON, P; FENTIE, K; WAKAYO, T; GIZAW, G. Prevalence of Anemia and Associated Factors among Secondary School Adolescent Girls in Jimma Town, Oromia Regional State, Southwest Ethiopia. **Anemia**, 2020.

FELT, B.T; PEIRANO, P; ALGARÍN, C; CHAMORRO, R; SIR, T; KACIROTI, N; LOZOFF, B. Long-term neuroendocrine effects of iron-deficiency anemia in infancy. **Pediatr Res**, v.71, n.6, p.707-12,2012.

FERREIRA, H.S; LAMENHA, M.L; XAVIER JÚNIOR, A.F; CAVALCANTE, J.C; SANTOS, A.M. Nutrition and health in children from former slave communities (quilombos) in the state of Alagoas, Brazil. **Rev Panam Salud Publica**, v.30, n.1, p.51-8, 2011.

FISBERG, R.M; MARCHIONI, D.M.L; COLUCCI, A.C.A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 617-624, 2009.

FIHN, B.M; SJOQVIST, A; JODAL, M. Permeability of the Rat Small Intestinal Epithelium Along the Villus-Crypt Axis: Effects of Glucose Transport. **GASTROENTEROLOGY**, v.119, p.1029–1036, 2000.

FREIRE, S, T; ALVES, D.B; MAIA, Y.L.M. Diagnóstico e tratamento da anemia ferropriva. **RRSFESGO**, v.3, n.1, p.124.131,2020.

GAREAU, M.G; JÚRI, J; YANG, P.C; MACQUEEN, G; PERDUE, M.H. Neonatal maternal separation causes colonic dysfunction in rat pups including impaired host resistance. **Pediatr Res**, v.59. n.1, p.83-8,2006.

GARCIA-CASAL, M. N; PASRICHAB, S.R. Hemoglobin Concentration for Assessing Anemia. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1450, n.1, p.1450,2019.

GERBE, F; JAY, P. Intestinal Tuft cells: Epithelial sentinels linking luminal cues to the immune system. **Mucosal Immunology**, v.9, n.6, p.1353-9,2016.

GERBE, F; VAN, E.S. JH; MAKRINI, L; BRULIN, B; MELLITZER, G; ROBINE, S; ROMAGNOLO, B; SHROYER, N.F; BOURGAUX, J.F; PIGNODEL, C; CLEVERS, H; JAY, P. Distinct ATOH1 and Neurog3 requirements define tuft cells as a new secretory cell type in the intestinal epithelium. **J Cell Biol**, v. 192, n. 5, p.767-780, 2011.

GIORGINI, E; FISBERG, M; DE PAULA, R.A; FERREIRA, A.M; VALLE, J; BRAGA, J.A. The use of sweet rolls fortified with iron bis-glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. **Arch Latino am Nutr**, v.51, p.48-53, 2001.

- GOMES, K.M; CERQUEIRA, L.E; SARGES, E.S; SOUZA, F.G; RIBEIRO C.H.M.A; MELO M.F.C; Anemia e parasitoses em comunidade ribeirinha da Amazônia brasileira. **Rev Bras Anal Clin**, v. 48, n.4, p.389-93, 2016.
- GONTIJO, T. L; OLIVEIRA, V. C; LIMA, K.C.B; LIMA, P.K.M. Prática profilática da anemia ferropriva em crianças na estratégia saúde da família. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v.7, 2017.
- GRANTHAM-MCGREGOR S; ANI, C. A Review of Studies on the Effect of Iron Deficiency on Cognitive Development in Children. **American Society for Nutritional Sciences**, v.131, n.2, p.649S–668S,2001.
- GREEN, R; MILLER, J.W. Chapter Fifteen - Vitamin B12 deficiency. **Vitamins and Hormones**,v.119, p.405-439,2022
- GUÉANT, J.L; GUÉANT-RODRIGUEZ, R.M; ALPERS, D.H. Vitamin B12 absorption and malabsorption. **Vitam Horm**, v.119, p.241-274, 2022.
- GUERRANT, R.L; ORIÁ, R.B; MOORE, S.R; ORIÁ, M.O; LIMA, A.A. Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development. **Nutr Rev**, v.66, n.9, p.487-505, 2008.
- HAMZA, R.T; HAMED, A.I; KHARSHOUM, R.R. Iron homeostasis and serum hepcidin-25 levels in obese children and adolescents: relation to body mass index. **Horm Res Paediatr**, v.80, n.1, p.11-7,2013.
- HAN, X; LU, S.D.J; LI, T. Global, regional, and national burdens of common micronutrient deficiencies from 1990 to 2019: A secondary trend analysis based on the Global Burden of Disease 2019 study. **The Lancet**, v. 44,2022.
- HANDS, E. S. **Nutrients** in food. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- HARTTIG, U; HAUBROCK, J; KNÜPPEL, S; BOEING, H. The MSM program: web-based statistics package for estimating usual dietary intake using the Multiple Source Method. **Eur J Clin Nutr**; v.65, n.1, p.S87-91, 2011.
- HASBAOUI, B.E; MEBROUK, N; SAGHIR, S; YAJOURI, A.E; ABILKASSEM, R; AGADR, A. Vitamin B12 deficiency: case report and review of literature. **Pan Afr Med J**, v.38, p.237, 2021.
- HENRIQUE, G. S; COZZOLINO, S.M.F. Ferro. *In*: COZZOLINO, S.M.F (org.). **Biodisponibilidade dos Nutrientes**, São Paulo: Manole, 2012.p. 462-482.
- HERSHKO, C. Ferro, infecção e função imunológica. **Proc Nutr Soc**, v.52, p.165-174, 1993.

HOFFBRAND, A.V; MOSS, P.A.H. Fundamentos em hematologia de Hoffbrand, cap2, p.14,2018

HUNT, A; HARRINGTON, D. Vitamin B12 deficiency. **BMJ**, p.349, 2014.

HURRELL, R.F. Influence of inflammatory disorders and infection on iron absorption and efficacy of iron-fortified foods. **Nestle Nutr Inst Workshop**, v.70, p. 107-116, 2012.

HURRELL, R.F. Linking the bioavailability of iron compounds to the efficacy of iron-fortified foods. **Int J Vitam Nutr Res**, v.77, n.2, p.166-173. 2007.

HURRELL, R; RANUM, P; DE PEE, S; BIEBINGER, R; HULTHEN, L; JOHNSON, Q; LYNCH, S. Revised recommendations for iron fortification of wheat flour and an evaluation of the expected impact of current national wheat flour fortification programs. **Food Nutr Bull**, v.31, n.1, p.7-21, 2010.

INSTITUTE OF MEDICINE. **DRIs**: Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. 480 Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

JAEGGI, T; KORTMAN, G.A; MORETTI, D; CHASSARD, C; HOLDING, P; DOSTAL, A; BOEKHORST, J; TIMMERMAN, H.M; SWINKELS, D.W; TJALSMA, H; NJENGA, J; MWANGI, A; KVALSVIG, J; LACROIX, C; ZIMMERMANN, M.B. Iron fortification adversely affects the gut microbiome, increases pathogen abundance and induces intestinal inflammation in Kenyan infants. **Gut**, v.64, n.5, p.731-742, 2015.

JEREMIAS, T; ABOU-RIZK, J; BURGARD, L; ENTENMANN, I; NASREDDINE, L; JOMAA, L; HWALLA, N; FRANK, J; SCHERBAUM, V. Anemia among Syrian Refugee Children Aged 6 to 23 Months Living in Greater Beirut, Lebanon, including the Voices of Mothers' and Local Healthcare Staff: A Mixed-Methods Study. **Nutrients**, v.15, n.3, p.700, 2023.

JOHANSSON, M.E; AMBORT, D; PELASEYED, T; SCHÜTTE, A; GUSTAFSSON, J.K; ERMUND, A; SUBRAMANI, D.B; HOLMÉN-LARSSON, J.M; THOMSSON, K.A; BERGSTRÖM, J.H; VAN DER POST, S; RODRIGUEZ-PIÑEIRO, A.M; SJÖVALL, H; BÄCKSTRÖM, M; HANSSON, G.C. Composition and functional role of the mucus layers in the intestine. **Cell Mol Life Sci**, v.68, n.22, p.3635-41, 2011.

JORDÃO, R.E; BERNARDI, J.L.D; BARROS FILHO, A.A. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. **Rev paul pediatr**, v. 27, n.1, p.90-98, 2009.

JUNIOR, E.V; CESAR, C.L.G; FISBERG, R.M; MARCHIONI, D.M.L. Variância intrapessoal da ingestão de energia e nutrientes em adolescentes: correção de dados em estudos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**; v.16, n.1, p.170-7, 2013.

KAHLON, N; GANDHI, A; MONDAL, S; NARAYAN, S. Effect of iron deficiency anemia on audiovisual reaction time in adolescent girls. **Indian J Physiol Pharmacol**, v.55, n.1, p.53-9, 2011.

KAHRAMAN, F.U; ÇAKIR, F.B; PIRIMOGLU, M.B; TORUN, E; ERGEN, H.A; DEMIR, A.D. Association of Myeloperoxidase Gene Polymorphism With Iron Deficiency Anemia in Turkish Children. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v.43, n.7, p.941-945, 2021.

KASSEBAUM, N.J, JASRASARIA R, NAGHAVI M, WULF SK, JOHNS N, LOZANO R, REGAN M, WEATHERALL D, CHOU DP, EISELE TP, FLAXMAN SR, PULLAN RL, BROOKER SJ, MURRAY CJ. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. **Epub**, v.123, n.5, p. 615-624,2014.

KHAN, L. Anemia in Childhood. **Pediatric Annals**, v.47, n.2, p. e42–e47,2018.

KOLETZKO, B; MARCAS, B; POSTON, L; GODFREY, K. Demmelmair H. Nutrição precoce P: Programação nutricional precoce da saúde a longo prazo. **Proc Nutr Soc**, v.71, p.371-378,2012.

KOLETZKO, B; BHATIA, J; BHUTTA, Z; COOPER, P; MAKRIDES, M; UAUY, R; WANG, W. 2nd revised edition. Basel, Karger: World Rev Nutr Diet. Basel Karger. **Pediatric Nutrition in Practice**, p.326, 2015.

KORPE, P. S; PETRI, W. A. Environmental enteropathy: critical implications of a poorly understood condition. **Trends in Molecular Medicine**, v. 18, p. 328–336, 2012.

KROKER-LOBOS, M.F; MAZARIEGOS, M; GUAMUCH, M; RAMIREZ-ZEA, M. Ultraprocessed Products as Food Fortification Alternatives: A Critical Appraisal from Latin America. **Nutrients**, v.14, n.7, p.1413, 2022

KUJOVICH, J.L. Evaluation of Anemia. **Obstet Gynecol Clin North Am**, v.43, n.2, p.247-64,2016.

KURASHIMA, Y; KIYONO, H. Mucosal ecological network of epithelium and immune cells for gut homeostasis and tissue healing. *Annu Rev Immunol*. v.35, p.119–47,2017.

LAI, J.S; MOHAMAD AYOB, M.N; CAI, S; QUAH, P.L; GLUCKMAN, P.D; SHEK, L.P; YAP, F; TAN, K.H; CHONG, Y.S; GODFREY, K.M; MEANEY, M.J; BROEKMAN, B.F.P; RIFKIN-GRABOI, A; CHONG, M.F.F. Maternal plasma vitamin B12 concentrations during pregnancy and infant cognitive outcomes at 2 years of age. **Br J Nutr**, v.121, n.11),p.1303-1312, 2019.

LEVY, M; KOLODZIEJCZYK, A.A; THAISS, C.A; ELINAV, E. Dysbiosis and the immune system. **Nat Rev Immunol**, v.17, p.219-232,2017.

LIMA, L.C; GONZALEZ, M.C. **Nutrição Clínica no dia a dia**. Rio de Janeiro: Rubio; 2018.

LLOYD-WRIGHT, Z; HVAS, A.M; MØLLER, J; SANDERS, T.A; NEXØ, E. Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. **Clin Chem**, v.49, n.12, p.:2076-8,2003.

LOUZADA, M.L; BARALDI, L.G; STEELE, E.M; MARTINS, A.P; CANELLA, D.S; MOUBARAC, J.C; LEVY, R.B; CANNON, G; AFSHIN, A; IMAMURA, F; MOZAFFARIAN, D; MONTEIRO, C.A. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. **Prev Med** v.81, p.9-15, 2015.

MACIEL, B.L.L; MORAES, M.L; SOARES, A.M; CRUZ, I.F.S; ANDRADE, M.I.R; FILHO, J.Q; JUNIOR, F.S; COSTA, P.N; ABREU, C.B; AMBIKAPATHI, R; GUERRANT, R.L; CAULFIELD, L.E; LIMA, A.A.M. Infant feeding practices and determinant variables for early complementary feeding in the first 8 months of life: results from the Brazilian MAL-ED cohort site. **Public Health Nutr**, v.21, n.13, p.2462–2470, 2018.

MAFRA, D; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina B12. *In*: COZZOLINO, S.M.F (org.). **Biodisponibilidade dos Nutrientes**, São Paulo: Manole,2012

MAGALHÃES, E.I.D.S; MAIA, D.S; PEREIRA NETTO, M; LAMOUNIER, J.A; ROCHA, D.D.S. Hierarchical analysis of the factors associated with anemia in infants. **Rev Paul Pediatr**, v.36, n.3, p.275-285,2018.

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. Causal Pathways from Enteropathogens to Environmental Enteropathy: Findings from the MAL-ED Birth Cohort Study. **EBioMedicine**, p.18:109-117,2017.

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. Early childhood cognitive development is affected by interactions among illness, diet, enteropathogens and the home environment: findings from the MAL-ED birth cohort study. **BMJ Glob Health**, v.3, n.4, p.752, 2018.

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. Use of quantitative molecular diagnostic methods to investigate the effect of enteropathogen infections on linear growth in children in low-resource settings: longitudinal analysis of results from the MAL-ED cohort study. **Lancet**, v. 6, p.1319 – 1328, 2018

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. Relationship between growth and illness, enteropathogens and dietary intakes in the first 2 years of life: findings from the MAL-ED birth cohort study. **BMJ Global Health**, v. 2, n. 4, p.370, 2017.

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. The MAL-ED study: a multinational and multidisciplinary approach to understand the relationship between enteric pathogens, malnutrition, gut physiology, physical growth, cognitive development, and immune responses in infants and children up to 2 years of age in resource-poor environments. **Clin Infect Dis**, v.59, p.S193–206, 2014.

MAL-ED NETWORK INVESTIGATORS. Biomarkers of Environmental Enteropathy, Inflammation, Stunting, and Impaired Growth in Children in Northeast Brazil. **PLoS One**, V.11, N.9, 2016.

- MARIOT NETTO, A; BRITO, M.G.S; PAVANELLI, M.F. Relação entre enteroparasitoses e alterações hematológicas em crianças da região centro-oeste do Paraná. **Rev Bras Anal Clin**, v.48, n.1, p.78-84, 2016.
- MARQUES, R.C; BERNARDI, J.V.E; DOREA, C.C; DÓREA, J.G. Intestinal Parasites, Anemia and Nutritional Status in Young Children from Transitioning Western Amazon. **Int J Environ Res Public Health**, v.17, n.2, p.577, 2020.
- MARTINS, C. Avaliação Laboratorial do Estado Nutricional, 2008
- MARTON, I; AGÓCS, S; BABIK, B. Az anaemiák epidemiológiája [Epidemiology of anemia]. **Orv Hetil**, v.161, n.37, p.1569-1573, 2020.
- MCCORMICK, B.J.J; LEE, G.O; SEIDMAN, J.C; HAQUE, R; MONDAL, D; QUETZ, J; LIMA, A.A.M; BABJI, S; KANG, G; SHRESTHA, S.K; MASON, C.J; QURESHI, S; BHUTTA, Z.A; OLOTEGUI, M.P; YORI, P.P; SAMIE, A; BESSONG, P; AMOUR, C; MDUMA, E; PATIL, C.L; GUERRANT, R.L; LANG, D.R; GOTTLIEB, M; CAULFIELD, L.E; KOSEK, M.N. Dynamics and Trends in Fecal Biomarkers of Gut Function in Children from 1-24 Months in the MAL-ED Study. **Am J Trop Med Hyg**, v.96, n.2, p.465-472, 2017.
- MELLO, C.S; BARROS, K.V; DE MORAIS, M.B. Brazilian infant and preschool children feeding: literature review. **J Pediatr (Rio J)**, v.92, n.5, p.451-63, 2016.
- MIGLIORANZA, L.H.S; MATSUO, T; CABALLERO-CÓRDOBA, G.M; DICHÍ, J.B; CYRINO, E.S; OLIVEIRA, I.B.N; Martins, M.S; Polezer, N.M; Dichi, I. Effect of long-term fortification of whey drink with ferrous bisglycinate on anemia prevalence in children and adolescents from deprived areas in Londrina, Paraná, Brazil. **Nutrition**, v.19, p.419-421, 2003.
- MIRANDA, V.I.A; BERTOLDI, A.D; SILVEIRA, M.P.T; FLORES, T.R; LUTZ, B.H. Recomendação e uso de sulfato ferroso em crianças de 12 e 24 meses de idade: avaliação da coorte de nascimentos de Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.23, 2020.
- MIOTTO, J.E; CARO, D.S.A; BARROS, M.F; REGO, B.E.F; SANTOS, F.C; MACAGNAN, R; SANTOS, I.S. Diagnóstico laboratorial de enteroparasitose e anemia e sua possível associação com eosinofilia em crianças em idade escolar em Ubitatã - PR. **Biosaude**, v.16, n.2, p.:52-62, 2014.
- MUKHERJEE, S; HOOPER, L.V. Antimicrobial defense of the intestine. **Immunity**, v.42, p.28-39, 2015.
- NAIRZ, M; WEISS, G. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: From anemia to hemochromatosis. **Wien Klin Wochenschr**, v.118, p.442-62, 2006.
- NAMASTE, S.M; AARON, G.J; VARADHAN, R; PEERSON, J.M; SUCHDEV, P.S; BRINDA Working Group. Methodologic approach for the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. **Am J Clin Nutr**, v.106, n.1, p.333S-347S, 2017.

NESTEL, P. Ajustando os valores de hemoglobina em pesquisas do programa. **Comitê Diretivo do INACG**, Washington, 2002.

NEVES, M.B.P; SILVA, E.M.K; MORAIS, M.B. Prevalência e fatores associados à deficiência de ferro em lactentes atendidos em um centro de saúde-escola em Belém, Pará, Brasil. **Cad Saude Publica**, v.21, n.6, p.1911-1918, 2005.

NG'ENO, B.N; PERRINE, C.G; WHITEHEAD, R.D; SUBEDI, G.R; MEBRAHTU, S; DAHAL, P; JEFFERDS, M.E. High Prevalence of Vitamin B12 Deficiency and No Folate Deficiency in Young Children in Nepal. **Nutrients**, v.9, n.1, p.72, 2017.

NEWHALL,D.A; OLIVER,R; LUGTHART,S. Anaemia: A disease or symptom? **The Netherlands Journal of Medicine**, v.78, n.3, 2020.

ORELLANA, J.D; COIMBRA CE, JR; LOURENÇO, A.E; SANTOS, R.V. Nutritional status and anemia in Suruí Indian children, Brazilian Amazon. **J Pediatr**, v.82, n.5, p.383-8, 2006.

ORIÁ, R.B; ANNE, G; BRITO, D.E.C. Sistema Digestório: integração básico-clínica. Blucher, São Paulo, p.837, 2016.

OSÓRIO, M. Fatores determinantes da anemia em crianças. **Jornal de Pediatria** [online], v. 78, n. 4, p. 269-278, 2002.

PAGANINI, D; UYOGA, M.A; KORTMAN, G.A.M; CERCAMONDI, C.; MORETTI, D; BARTH-JAEGGI, T; SCHWAB, C; BOEKHORST,J; TIMMERMAN, H.M; LACROIX,C; KARANJA,S; ZIMMERMANN,M.B. Prebiotic galacto-oligosaccharides mitigate the adverse effects of iron fortification on the gut microbiome: a randomised controlled study in Kenyan infants. **BMJ Jornal**, v.66, n.11, p. 1956-1967, 2017.

PAGANINI, D; ZIMMERMANN, M.B. The effects of iron fortification and supplementation on the gut microbiome and diarrhea in infants and children: a review. **Am J Clin Nutr**, v.106, n.6, 2017.

PANICHSILLAPHAKIT, E; SUTEEROJNTRAKOOL, O; PANCHAROEN, C; NUCHPRAYOON, I; CHOMTHO, S. The Association between Hepcidin and Iron Status in Children and Adolescents with Obesity. **J Nutr Metab**, 2021.

PARDO-CABELLO, AJ; MANZANO-GAMERO, V; PUCHE-CAÑAS, E. Vitamin B12: For more than just the treatment of megaloblastic anemia? **Rev Clin Esp (Barc)**, v.223, n.2, p.114-119, 2023.

PASKLAN, A.N.P; QUEIROZ, R.C.S; ROCHA, T.A.H; SILVA, N.C.D; TONELLO, A.S; VISSOCI, J.R.N; TOMASI, E; THUMÉ, E; STATON, C; THOMAZ, E.B.A.F. Análise espacial da qualidade dos serviços de Atenção Primária à Saúde na redução da mortalidade infantil [Spatial analysis of the quality of Primary Health Care services in reducing child mortality]. **Cien Saude Colet**, v.26,n.12,p.247-6258,2021.

PASRICHA, S.R, Anemia: a comprehensive global estimate. **Blood**, v.123, n. 5, p. 611-612,2014.

PASRICHA, S.R; DRAKESMITH, H; BLACK, J; HIPGRAVE, D; BIGGS, B.A. Control of iron deficiency anemia in low- and middle-income countries. **Blood**, v.121, n.14, 2013.

PASRICHA, S.R; TYE-DIN, J; MUCKENTHALER, M.U; SWINKELS, D.W. Iron deficiency. **Lancet**, v.397, p. 233-248, 2021.

PAWLAK, R. Is vitamin B12 deficiency a risk factor for cardiovascular disease in vegetarians? **American Journal of Preventive Medicine**, v.48, n.6, p.11-26, 2015.

PEDRAZA, D.F. Saúde e nutrição das crianças assistidas em creches públicas do município de Campina Grande, Paraíba. **Cad Saude Colet**, v.24, n.2, p.200-8, 2016.

PEREIRA, M; GOUVEIA, F. Da boca para dentro. *In*: **Modulação Intestinal fundamentos e estratégias práticas**, cap 4, p.168-198, 2019.

PETERSON, L.W; ARTIS, D. Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis. **Nat Rev Immunol**, v.14, n.3, p.141-153, 2014.

PINEDA, J. C. Semiología nutricional: el mejor camino para la seguridad diagnóstica y terapéutica. *Revista De Nutrición Clínica Y Metabolismo*, v.4, n.1, 2020.

PRELL, C; KOLETZKO, B. Aleitamento Materno e Alimentação Complementar. **Dtsch Arztebl Int**, v.113, n.25, p.435-444, 2016.

PRZYREMBEL, H. Timing of introduction of complementary food: short- and long-term health consequences. **Ann Nutr Metab**, v.60, n.2, p.8-20,2012.

PSAKI, S.R; SEIDMAN, J.C; MILLER, M; GOTTLIEB, M; BHUTTA, Z.A; AHMED, T; AHMED, A.S; BESSONG, P; JOHN, S.M; KANG, G; KOSEK, M; LIMA, A; SHRESTHA, P; SVENSEN, E; CHECKLEY, W; MAL-ED Network Investigators. Measuring socioeconomic status in multicountry studies: results from the eight-country MAL-ED study. **Popul Health Metr**, v.12, n.1, 2014.

REMACHA, A.F; SOUTO, J.C; PIÑANA, J.L; SARDÀ, M.P; QUERALTÓ, J.M; MARTÍ-FABREGAS, J; GARCÍA-MOLL, X; FÉRNANDEZ, C; RODRIGUEZ, A; CUESTA, J. Vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and thrombosis: a case and control study. **Int J Hematol**, v.93, n.4, p.458-464,2011.

RIBEIRO, C.M; FAZENDA, J. Fatores associados a alta prevalência de anemia ferropriva em crianças até 5 anos. **Research, Society and Development** v.11,p. 01-12,2022.

RICHARD, S.A; MCCORMICK, B.J.J; MURRAY-KOLB, L.E; LEE, G.O; SEIDMAN, J.C; MAHFUZ, M; AHMED, T; GUERRANT, R.L; PETRI, W.A; ROGAWSKI, E.T; HOUP, E; KANG, G; MDUMA, E; KOSEK, M.N; LIMA, A.A.M; SHRESTHA, S.K; CHANDYO, S.K;

- BHUTTA, Z; BESSONG, P; CAULFIELD, L.E. MAL-ED Network Investigators, Enteric dysfunction and other factors associated with attained size at 5 years: MAL-ED birth cohort study findings, **The American Journal of Clinical Nutrition** n.110, p.131–138,2019.
- RICHARD, S.A; MCCORMICK, B.J; MILLER, M.A; CAULFIELD L.E; CHECKLEY, W. MAL-ED Network Investigators. Modeling environmental influences on child growth in the MAL-ED cohort study: opportunities and challenges. **Clin Infect Dis**, v.59, n.4, p.S255-S260,2014.
- ROCHA, D.S; CAPANEMA, F.D; NETTO, M.P; FRANCESCHINI,S.C.C; LAMOUNIER,J.A. Prevalence and risk factors of anemia in children attending daycare centers in Belo Horizonte – MG. **Rev Bras Epidemiol**, v. 15, n.3, p.675-84,2012.
- RODRIGUES, V.C; MENDES, B.D; GOZZI, A; SANDRINI F; SANTANA, R.G; MATIOLI, G. Deficiência de ferro, prevalência de anemia e fatores associados em crianças de creches públicas do oeste do Paraná, Brasil. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 3, p. 407-420, 2011.
- RODRIGUES, F.A.P; MEDEIROS, P.H.Q.S; PRATA, M.M.G; LIMA, A.A.M; Fisiologia da barreira epitelial intestinal. *In: Sistema digestório: integração básico-clínica*. 1 ed [s.l.] Blucher, p. 471-473, 2016.
- ROMULUS-NIEUWELINK, J.J; DOAK, C; ALBERNAZ, E; VICTORA, C.G; HAISMA, H. Breast milk and complementary food intake in Brazilian infants according to socio-economic position. **Int J Pediatr Obes**, v.6, n. 2, p. 508-514,2011.
- RUTSTEIN, S.O; JOHNSON, K. The DHS Wealth Index [Internet]. DHS Comparative Reports No. 6. Calverton, Maryland: **ORC Macro**, p.1–71,2004.
- SANTOS, L; SILVA, T; LESSA, A; NOBRE, L; MACEDO, M. Prevalência de Anemia Ferropriva Entre Pré-Escolares no Brasil: Revisão de Literatura. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** v.01, p.187-207,2018.
- SANTOS, E.C; BRITO, A; PEREIRA, I.R.O. Deficiência de vitamina B12: um fator que induz à depressão? **Cad. Pós-Grad. Distúrb. Desenvolv**, v.16, n.2, p. 33-46, 2016.
- SANTOS, C.E.C; SCHERER, E.F; SANTOS, R.M.F. Estudo comparativo das doenças parasitológicas de veiculação hídrica no município de Montes Claros de Goiás e no distrito de Aparecida do Rio Claro. **Rev Univar**, v.2, n.12, p.90-5, 2014.
- SCHROTH, R.J; LEVI, J; KLIEWER, E; FRIEL, J; MOFF ATT MEK. Association between iron status, iron deficiency anaemia, and severe early childhood caries: a case–control study. **BMC Pediatrics**, v.13, p.22, 2013.
- SELA, D.A; MILLS, D.A. Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. **Trends Microbiol**, v.18, p.298–307,2010.

SHENG, X; WANG, J; LI, F; OUYANG, F; MA, J. Effects of dietary intervention on vitamin B₁₂ status and cognitive level of 18-month-old toddlers in high-poverty areas: a cluster-randomized controlled trial. **BMC Pediatr**, v.19, p.334, 2019.

SILVA, G.L; SOUZA, G.F; PEREIRA, R.K.L; BARRETO, T.M; BESERRA, F.F; BACELAR, L.F. Estudo de caso: lactente com hipovitaminose B12. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, v.27, n.1, p.61-66, 2019.

SILVA, T. S; ALMEIDA, D. H. Principais parasitoses intestinais em crianças escolares: revisão integrativa. **Diversitas Journal**, v.7, n.2. 2022.

SLATER, E; MARCHIONI, D.L; FISBERG, R.M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.4, p. 599 -605, 2004.

SINGH, A.B; UPPADA, S.B; DHAWAN, P. Claudin proteins, outside-in signaling, and carcinogenesis. *Pflugers Arch*, v.469, n.1, p.69-75, 2017.

SOARES, A. L; OLIVEIRA, E. A. N; SOUZA, I. F. A. C. A importância da educação sanitária no controle e prevenção ao ascaris lumbricoides na infância. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-FACIPE**, v.3, n.3, p.22, 2018.

SOARES, I. A; ZOTTI, A. P; GNOATTO, E. S; PLETSCH, F; BROCK, G. M. C. Parasitoses Intestinais em Crianças de Centros Municipais De Educação Infantil. **Varia Scientia - Ciências da Saúde**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 9–17, 2020.

SOCHA, D.S; DESOUZA, S.I; FLAGG, A; SEKERES, M; ROGERS, H.J. Severe megaloblastic anemia: Vitamin deficiency and other causes. **Cleve Clin J Med**, v.87, n.3, p.153-164, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Departamento de Nutrologia e Hematologia-Hemoterapia. **Consenso sobre anemia ferropriva**: mais que uma doença, uma urgência médica. São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia e Hematologia-Hemoterapia, p.12, 2018

STABLER, S. P. Vitamin B12 Deficiency. **New England Journal of Medicine**, v.368, n.2, p.149–160, 2013.

STEVENS, G.A; FINUCANE, M.M; DE-REGIL, L.M; PACIOREK, C.J; FLAXMAN, S.R; BRANCA, F; PEÑA-ROSAS, J.P; BHUTTA, Z.A; EZZATI, M; Nutrition Impact Model Study Group (Anaemia). Global, regional, and national trends in haemoglobin concentration and prevalence of total and severe anaemia in children and pregnant and non-pregnant women for 1995-2011: a systematic analysis of population-representative data. **Lancet Glob Health**, v.1, n.1, p.16-25, 2013.

STEVENS, G.A; PACIOREK, C.J; FLORES-URRUTIA, M.C; BORGHI, E; NAMASTE, S; WIRTH, J.P; SUCHDEV, P.S; EZZATI, M; ROHNER, F; FLAXMAN, S.R; ROGERS, L.M. National, regional, and global estimates of anaemia by severity in women and children for 2000-19: a pooled analysis of population-representative data. **Lancet Glob Health**, v.10, n.5, p.627-639, 2022.

SUCHDEV, P.S; NAMASTE, S.M; AARON, G.J; RAITEN, D.J; BROWN, K.H; FLORES-AYALA, R. BRINDA Working Group. Overview of the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) Project. **Adv Nutr**, v.7, n.2, p.349-356, 2016.

SUCHDEV, P.S; JEFFERDS, M.E.D; OTA, E; DA SILVA LOPES, K; DE-REGIL, L.M. Home fortification of foods with multiple micronutrient powders for health and nutrition in children under two years of age. **Cochrane Database Syst Ver**, v.2,n.2, 2020.

SULLIVAN, K.M; VENUGOPALAN, B; JEFFERDS, M.E; BOY, E; BONILLA, J; SANDINO, I; HALLESLEVENS, P. Association of elevated α_1 -acid glycoprotein (AGP) and the prevalence of anemia in Nicaraguan preschool children. **Food Nutr Bull**, n.33, v.2, p.137-41, 2012.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO), **Brazilian Food Composition Table** (TACO), NEPA-UNICAMP, 2011.

THANE, C.W; BATES, C.J; PRENTICE, A. Risk factors for low iron intake and poor iron status in a national sample of British young people aged 4-18 years. **Public Health Nutr**, n.6, p.485-96, 2003.

THE EUROPEAN SOCIETY FOR PAEDIATRIC GASTROENTEROLOGY HEPATOLOGY AND NUTRITION (ESPGHAN) Committee on Nutrition: Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v.46, n.1, p.99-110, 2008.

THURNHAM, D; MCCABE, G. Influence of infection and inflammation on biomarkers of nutritional status with an emphasis on vitamin A and iron. Geneva. **World Health Organization**; 2014.

THURNHAM, D.I. INFLAMMATION AND BIOMARKERS OF NUTRITION, SIGHT AND LIFE | VOL. 29(1) | 2015.

TSUKITA, S; FURUSE, M. Overcoming barriers in the study of tight junction functions: from occludin to claudin. **Genes Cells**, v.3, n.9, p.569-73, 1998.

TUMA, R.B; YUYAMA, L.K.O; AGUIAR, J.P.L; MARQUES, H.O. Impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato no nível de hemoglobina de pré-escolares. **Rev Nutr**, v.16, p.29-39, 2003.

TURNER, J. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nat Rev Immunol**, v.9, p.799–809,2009.

UMASANKER, S; BHAKAT, R; MEHTA, S; RATHAUR, V.K; VERMA, P.K; BHAT, N.K; NAITHANI, M; CHACHAM, S. Vitamin B12 deficiency in children from Northern India: Time to reconsider nutritional handicaps. **J Family Med Prim Care**, v.9, n.9, p.4985-4991,2020.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. Biomarcadores do estado de micronutrientes: prevalências de deficiências e curvas de distribuição de micronutrientes em crianças brasileiras menores de 5 anos 3: **ENANI** 2019. - Documento eletrônico. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2021. (156 p.).Disponível em: <https://enani.nutricao.ufrj.br/index.php/relatorios/> Acesso em: 22.10.2021.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. Estado Nutricional Antropométrico da Criança e da Mãe: Prevalência de indicadores antropométrico de crianças brasileiras menores de 5 anos de idade e suas mães biológicas: **ENANI** 2019. - Documento eletrônico. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2022. (96 p.). Disponível em: https://enani.nutricao.ufrj.br/wp-content/uploads/2022/02/Relatorio_Estado_Nutricional-5.pdf Acesso em: 15.11. 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. Alimentação Infantil I: Prevalência de indicadores de alimentação de crianças menores de 5 anos: **ENANI** – 2019 / coordenado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, em conjunto com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense e Fundação Oswaldo Cruz;. - Documento eletrônico. Rio de Janeiro: UFRJ, 2021. (135 p.). Disponível em: https://enani.nutricao.ufrj.br/wp-content/uploads/2021/12/Relatorio-5_ENANI-2019_Alimentacao-InfantilL.pdf/ Acesso em: 24.11.2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. Aleitamento materno: Aleitamento materno: prevalência e práticas entre crianças brasileiras menores de 2 anos. 4: **ENANI** – 2019 / coordenado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, em conjunto com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense e Fundação Oswaldo Cruz. Documento eletrônico. - Rio de Janeiro: UFRJ, 2021.(108 p.) Disponível em: https://enani.nutricao.ufrj.br/wp-content/uploads/2021/11/Relatorio-4_ENANI-2019_Aleitamento-Materno.pdf Acesso em: 24.11.2022

VAN VLAENDEREN, J; CHRISTIAENS, J; VAN WINCKEL, M; DE BRUYNE, R; VANDE VELDE, S; VAN BIERVLIET, S. Vitamine B12 deficiency in children: a diagnostic challenge. **Acta Gastroenterol Belg**,v.84, n.1, p.:121-124,2021

VARGAS, A.C.C.O; ABREU, J.D; KRAVCHYCHYN, A.C.P. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.4, n.2, p. 5336-5352, 2021

VELLOZO, ELIANA P. E FISBERG, M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia** [online], v. 32,p. 134-139,2010.

VÍTOLO, M.R; AGUIRRE, A.N.C; KONDO, M.R; GIULIANO, Y; FERREIRA, N; LOPEZ, F.A. Impacto do uso de cereal adicionado de ferro sobre níveis de hemoglobina e a antropometria em pré-escolares. **Rev Nutr**, v.11. p.163-171, 1998.

WALKER, S.P; WACHS, T.D; GRANTHAM-MCGREGOR, S; BLACK, M.M; NELSON, C.A; HUFFMAN, S.L; BAKER-HENNINGHAM, H; CHANG, S.M; HAMADANI, J.D; LOZOFF, B; GARDNER, J.M.M; POWELL, C.A; RAHMAN, A; RICHTER, L. Inequality in early childhood: risk and protective factors for early child Development. **Lancet**, v.378, n.9799, p.1325-38, 2011.

WAN, Z; ZHENG, J; ZHU, Z; SANG, L; ZHU, J; LUO, S; ZHAO, Y; WANG, R; ZHANG, Y; HAO, K; CHEN, L; DU, J; KAN, J; HE, H. Intermediate role of gut microbiota in vitamin B nutrition and its influences on human health. **Front Nutr**, v. 9, 2022

WANG, M. Iron deficiency and other types of anemia in infants and children. **Am Fam Physician**, v.15, p.270-278, 2016.

WANG, F; LIU, H; WAN, Y; LI, J; CHEN, Y; ZHENG, J; HUANG, T; LI, D. Prolonged Exclusive Breastfeeding Duration Is Positively Associated with Risk of Anemia in Infants Aged 12 Months. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n.9, p.1707–1713, 2016.

WATANABE, K.; PETRI, W. A. Environmental Enteropathy: Elusive but Significant Subclinical Abnormalities in Developing Countries. **EBioMedicine**, v. 10, p. 25–32, 2016.

WEISS, G; GOODNOUGH, L.T. Anemia of chronic disease. **N Engl J Med**, v.352, p.1011-23, 2005.

WELSH, F.K; FARMERY, S.M; MACLENNAN, K; SHERIDAN, M.B; BARCLAY, G.R; GUILLOU, P.J; REYNOLDS, J.V. Gut barrier function in malnourished patients. **Gut**, v.42, n.3, p.396-401,1998.

WHO, W.H.O. **Global database on anemia and iron deficiency**, 2000.

WHO, W.H.O. Pan American Health Organization. **Guiding Principles for Complementary Feeding of the Breastfed Child**, Washington, 2003.

WHO, W.H.O. **Assessing the iron status of populations : including literature reviews** : report of a Joint World Health Organization/Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level, ed.2,2004.

WHO, W.H.O The global burden of disease:Geneva,2004

WHO/ CDC. **Assessing the iron status of populations: including literature reviews:** report of a Joint World Health Organization/Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level, Geneva, n.2,2004.

WHO, W.H.O. US Centers for Disease Control. **Assessment of iron status in populations.** Report of a joint WHO/CDC Technical Consultation on the assessment of iron status in the population,2005

WHO, W. H. O. Multicenter Growth Reference Study Group **WHO child growth standards based on length/height, weight and age**, p.76-85,2006b.

WHO, W. H. O. Multicenter Growth Reference Study Group. **Reliability of Anthropometric Measurements in the WHO** Multicenter Growth Reference Study, p.38-46,2006a

WHO, W. H. O. Multicentre Growth Reference Study Group. **WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age.** Geneva: WHO; 2006.

WHO, W.H.O. **Guidelines on food fortification with micronutrients**, p. 43-44, 2006.

WHO, W.H.O. **Guiding principles for feeding non-breastfed children 6-24 months of age.** Geneva: WHO, 2006.

WHO. **Indicators for assessing infant and young child feeding practices: part 1 definitions.** Geneva: WHO, 2008.

WHO, W.H.O. **Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005:** WHO global database on anaemia, p.40,2008a.

WHO, W.H.O. **Indicators for assessing infant and young child feeding practices: part 1 definitions.** Geneva, 2008b.

WHO, W.H.O. **Recommendations on Wheat and Maize Flour Fortification Meeting Report:** Interim Consensus Statement. Geneva, 2009.

WHO, W.H.O. **Hemoglobin concentrations for anemia diagnosis and severity assessment.** Geneva: WHO,2011.

WHO, W.H.O. **Comprehensive Implementation Plan on Maternal, Infant, and Young Child Nutrition.** Geneva, v.6, n.1, p.134-5, 2014.

WHO, W.H.O. **Pregnancy, childbirth, postpartum and newborn care: a guide for essential practice**, p.184,2015.

WHO, W.H.O. **WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience**,2016.

WHO, W.H.O. **guideline development group – Anaemia: Use and interpretation of haemoglobin concentrations for assessing anaemia status in individuals and populations**, Barcelona, 2019.

WHO, W.H.O. **Iron deficiency anaemia. assessment, prevention and control. A guide for programme managers**. Geneva; 2001.

WHO, W.H.O. **Malnutrition**: World Health Organization, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>>. Acesso em:23 maio. 2022.

WHO, W.H.O. **Second meeting of the WHO guideline development group –Anaemia: Use and interpretation of haemoglobin concentrations for assessing anaemia status in individuals and populations**, Geneva,2022.

WHO, W.H.O. **Call for expressions of interest to join the Alliance for Anaemia Actions**,2022.

WILLETT, W.C; HOWE, G.R. KUSHI LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.65, n.4, p.1220S–1228S,1997.

WOLFFENBUTTEL, B. H. R; WOUTERS, H. J. C. M; HEINER-FOKKEMA, M. R; VAN DER KLAUW, M. M. The Many Faces of Cobalamin (Vitamin B12) Deficiency. **Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes**, v.3, n.2, p.200–214, 2019.

WONG, E; MOLINA-CRUZ, R; ROSE, C; BAILEY, L; KAUWELL, G.P.A; ROSENTHAL, J. Prevalence and Disparities in Folate and Vitamin B12 Deficiency Among Preschool Children in Guatemala. **Matern Child Health J**, v.6, n.1, p156-167,2022.

WONKE, B. Bone disease in beta-thalassaemia major. **Br J Haemato**, v.103, n.4, p.897–901,1998.

WORTHINGTON, M.T; COHN, S.M; MILLER, S.K; LUO, R.Q; BERG, C.L. Characterization of a human plasma membrane heme transporter in intestinal and hepatocyte cell lines. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v.280, n.6, p.1172-7,2001.

YAIKHOMBA, T; POSWAL, L; GOYAL, S. Assessment of iron, folate and vitamin B12 status in severe acute malnutrition. **Indian J Pediatr**. 2015 v.82, n.6, p. 511-4,2015.

ZIHNI, C; MILLS, C; MATTER, K; BALDA, M.S. Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v.17, n.9, p.564-80,2016.

ZINÖCKER, M.K; LINDSETH, I.A. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. **Nutrients**, v.10, n.3, p.365,2018.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N° 135/10

Fortaleza, 28 de junho de 2010

Protocolo COMEPE n° 246/ 09

Pesquisador responsável: Aldo Ângelo Moreira Lima

Dept°./Serviço: Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ UFC

Título do Projeto: "Etiologia, fatores de risco e interações das infecções entéricas e desnutrição e suas conseqüências no desenvolvimento e saúde da criança"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução n° 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou na reunião do dia 24 de junho de 2010 as respostas apresentadas no projeto supracitado, pois atende as recomendações da CONEP.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deve se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Frota', is written over a circular stamp.

Dr. Fernando A. Frota Bezerra
Coordenador do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC

ANEXO B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA

Infecção Entérica e Desnutrição			Local do Estudo: Brasil
Estudo COORTE			
TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PESQUISA INTERNACIONAL			
IRB-HSR < # >	Versão #5	28Maio2010	Página 104 de 107

Nome

Criança

PID #

Participante:

Mãe:

PID #

-- CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DE UM ESTUDO DE PESQUISA --

De Que Trata Este Estudo

Doutores da Universidade Federal do Ceará e uma instituição nos estados unidos estão tentando aprender sobre as causas de desnutrição em crianças pequenas em seus países e em outros países ao redor do mundo, incluindo Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal, Paquistão, Peru, África do Sul e Tanzânia. Desnutrição é quando há má absorção dos nutrientes através da comida. Isto tem várias causas. Uma causa é a falta de acesso adequado a comida. Em adição, desnutrição é associada com infecções intestinais que pode mudar a utilização dos nutrientes. É também possível que a genética torne algumas crianças mais suscetíveis que outras à infecção.

Genes são feitos de material conhecido com DNA. É herança de nossos pais e os homens podem carregar os genes de muitos micróbios amigos que moram em nosso corpo. Este esforço para aprender mais sobre as causas da desnutrição em crianças é um estudo de pesquisa.

Este projeto foi aprovado pelos comitês de ética em pesquisa nos países onde se fará o estudo, inclusive o Brasil.

A razão para este estudo de pesquisa é que a desnutrição é um grande problema em nosso país e a participação de sua criança neste estudo talvez conduza a novos caminhos de prevenção ou tratamento de desnutrição. Um possível benefício de sua participação pode ser melhorar a saúde de todos que moram em nosso e em outros países.

Você está sendo convidado a participar deste estudo porque a participação de sua criança talvez nos ajude a identificar o que causa desnutrição em crianças durante os primeiros 2 anos de vida. Este é o tempo onde a desnutrição pode ser muito comum e pode conduzir a longo prazo inabilidade se não tratada apropriadamente.

Os pesquisadores deste estudo são: Dr. Aldo Lima (Brasil) e Dr. Richard Guerrant (EUA).

Este estudo será realizado em Fortaleza, Brasil.

O Que Acontecerá Durante o Estudo?

Se você aceitar que sua criança participe deste estudo nós faremos o seguinte:

- Visitaremos você 2 vezes na semana por 24 meses para monitorar a diarreia em sua criança e a saúde dela de forma em geral;
- Visitaremos você (mãe) no início do estudo para medir sua altura e peso e coletar uma pequena amostra de saliva para isolar seu gene (DNA) e/ou sangue (equivalente a uma colher de chá) para determinar seu grupo sanguíneo. Sua decisão em participar nesta parte do estudo é opcional e não afetará a participação de sua criança.
- Visitaremos uma vez por mês nos meses 0-24 (25 vezes) para:
 1. Coletar informações sobre o tipo de alimentação de sua criança;
 2. Medir a altura, peso e circunferência da cabeça de sua criança;
 3. Coletar uma amostra de fezes de sua criança em cada uma dessas visitas ou sempre que sofrer de diarreia para identificar e isolar o micróbio e, em certas ocasiões, estudar os genes dos micróbios das fezes (DNA) e seus produtos.
- Quando sua criança estiver entre 7 e 15 meses de idade (2 vezes):
 1. Coletaremos uma amostra de saliva (equivalente a uma colher) para isolar os genes de sua criança (DNA) e uma amostra de sangue para testar o nível de nutrientes que sua criança possui.
- Quando sua criança tiver entre 3, 6, 9 e 15 meses de idade (4 vezes):
 1. Sua criança deverá tomar uma solução de açúcar e coletaremos a urina dela 5 horas depois.
- Periodicamente será realizada uma entrevista:
 1. Avaliaremos você (mãe) e os membros da casa:
 - Entrevistaremos você para coletar informações sobre os membros da casa e sobre seus costumes, quando sua criança tiver entre 1, 6, 15 e 36 meses de idade.
 - Em uma sala privada da comunidade em que você mora mediremos a habilidade em razão e resolução de problemas quando sua criança estiver com cerca de 9 meses de idade.
 2. Avaliaremos sua criança:
 - Entrevistaremos você (mãe) para perguntar sobre a habilidade de linguagem de sua criança (quando sua criança estiver cerca de 9, 15 e 36 meses de idade) e a personalidade de sua criança e ambiente familiar (quando sua criança tiver com cerca de 6, 15 e 36 meses de idade (e possivelmente aos 5-7 anos de idade));
 - Levaremos você e sua criança para uma sala privada na comunidade onde mediremos o desenvolvimento mental e motor de sua criança bem como gravaremos o comportamento dela quando ela tiver entre 6, 15 e 36 meses de idade (e possivelmente aos 5-7 anos de idade);

Existe a possibilidade dessas avaliações serem gravadas em vídeo para que possamos verificar a qualidade da administração dos testes de avaliação cognitiva.

 - Se sua criança for encaminhada a um centro de saúde, hospital ou médico, talvez poderemos obter algumas informações médicas ou resultados de testes.

Armazenaremos saliva e sangue de sua criança, urina, fezes e DNA coletados como parte deste estudo em câmeras seguras de armazenamento, tais como congelador, que ficam localizados em salas que podem apenas serem acessados por algum membro de nossa equipe científica. Algumas dessas amostras coletadas poderão ser enviadas a um laboratório na Universidade da Virgínia (EUA) para testes genéticos de riscos ligados à diarreia e desnutrição. Todas as amostras serão codificadas com número, assim não terá nenhuma identificação das informações (isto é: nome e endereço) e serão estocadas com os resultados de seus testes. Se você mudar de idéia sobre manter suas amostras você poderá entrar em contato com a equipe e as amostras serão destruídas. Caso você concorde em participar deste estudo suas amostras ficarão estocadas e sob a responsabilidade do grupo de estudo durante os cinco anos de realização do estudo.

Esta Pesquisa Poderá Ajudar-me?

Os benefícios para você ao entrar neste estudo é que poderemos determinar a causa da desnutrição de sua criança e encaminhar-lhe para serviços de saúde locais para tratamento apropriado. Sua criança poderá ser beneficiada com a monitoração e a promoção do peso que deverá acontecer aos 0, 3, 6, 9 e 12m do estudo . O doutor e/ou o investigador informará sobre qualquer situação durante o estudo que tenha importância para realizar cuidados médicos.

Esta Pesquisa Promove Alguém Risco?

Consideramos que toda pesquisa envolvendo seres humanos envolve risco, mesmo que seja mínimo. Algum dano eventual poderá ser imediato ou tardio, comprometendo o indivíduo ou a comunidade. Pode ser que você se sinta desconfortável ao responder o questionário e que você e/ou sua criança pode ter leve e temporária dor quando da coleta de sangue, além de poder surgir uma mancha roxa resultante do extravasamento de sangue para fora do vaso sanguíneo.

Garantia em Caso de Danos

Não está previsto indenização ou ressarcimento ao sujeito participante deste estudo, porém o pesquisador responsável assume a responsabilidade de fornecer a assistência integral necessária referente às complicações e danos decorrentes de algum risco previsto.

Como Minha Privacidade Será Protegida?

Registros do estudo que o identificam (Ex.: Nome e Endereço) serão mantidos confidenciais e fechados em um lugar seguro sob a responsabilidade do investigador principal local. Como registrado acima, as amostras de sua criança e os resultados dos testes serão codificados e armazenados separadamente para a análise pelos investigadores que estão trabalhando junto neste projeto nos diferentes locais do estudo. Assim asseguraremos que nenhum investigador nestes diferentes locais do estudo possa identificar sua criança como doadora destas amostras.

Outras pessoas que podem acessar os resultados dos seus testes e termo de consentimento são os comitês e agências nacionais e internacionais que cuidam desta pesquisa.

Se você assinar este formulário, você dará permissão para divulgar a informação a todos os pesquisadores autorizados e ao comitê de segurança. Não existe data de validade para esta permissão. Esta informação, como toda informação gerada neste estudo, será codificada, impossibilitando alguém seguir você ou sua criança, ou seja, sua privacidade será protegida.

Em adição, também pedimos permissão para liberar informações sobre bactérias no intestino de sua criança. Isto será liberado somente com sua permissão e sem nenhuma informação sua ou de sua criança associado a ele.

Eu Preciso Participar?

Você não precisa participar deste estudo se não quiser. Isto significa participação voluntária. Cabe a você decidir em estar neste estudo de acordo com seu interesse. Se você não desejar participar deste estudo não assine este formulário.

Você pode interromper sua participação no estudo a qualquer hora. Se você decidir retirar sua criança do estudo entre em contato com as agentes de saúde ou com o pesquisador local para registrarmos sua saída. Também informe se você desejar que suas amostras e de sua criança já coletadas sejam destruídas e os dados removidos do banco de dados.

Se você decidir não participar ou se, em qualquer momento você decidir parar o estudo ninguém ficará irritado com você.

Quem Eu Posso Contactar Para Questões Sobre Direitos Como Sujeito de Pesquisa?

Comitê de Ética em Pesquisa da UFC (COMEPE), telefone: 3366.8338. Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270.

Quem Contactar Com Dúvidas Sobre o Estudo?

Se você tiver alguma pergunta ou preocupação sobre o estudo, por favor, ligue para Dr. Aldo Lima, Unidade de Pesquisa Clínica, UFC (telefone: 3366.8437) ou peça a enfermeira do estudo para ajudar você a contatar com as pessoas responsáveis.

Assinatura

Faça todas as perguntas que você precisar para ter certeza de que entendeu o estudo antes de assinar este formulário.

_____	_____	_____
NOME DO PARTICIPANTE (ASSINATURA)	NOME DO PARTICIPANTE (LETRA DE FORMA)	DATA

_____	_____	_____
QUEM OBTVEVE O CONSENTIMENTO (ASSINATURA)	QUEM OBTVEVE CONSENTIMENTO (LETRA DE FORMA)	DATA

Nota para as Agentes de Saúde: No caso de pessoas iletradas, o termo de consentimento será lido para você com a presença de uma testemunha (não vinculada ao estudo) e uma impressão digital (do dedo) será obtida no lugar da assinatura. A testemunha também precisa assinar este formulário.

_____	_____	_____
NOME DA TESTEMUNHA (ASSINATURA)	NOME DA TESTEMUNHA (LETRA DE FORMA)	DATA