

MINISTÉRIO DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA
COORDENAÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO CENTROS
COLABORADORES EM ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO

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

Equipe executora

Coordenação geral:	Marly Augusto Cardoso ¹
Pesquisadores:	
Ministério da Saúde	Patrícia Constante Jaime Gisele Ane Bortolini Sara Araújo da Silva
Centro Goiânia:	Maria Claret C. M. Hadler ² Maria do Rosário G. Peixoto ²
Centro Olinda:	Pedro Israel C. Lira ³ Leopoldina Augusta S. Sequeira ³
Centro Rio Branco:	Pascoal Torres Muniz ⁴

(1) Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde (NUPENS), Universidade de São Paulo

(2) Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás

(3) Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco

(4) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Acre

São Paulo
2011

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	3
2	OBJETIVOS	7
2.1	Objetivos específicos	7
3	INDIVÍDUOS E MÉTODOS	8
3.1	Delineamento e população de estudo	8
3.2	Critérios de inclusão e exclusão do estudo	10
3.3	Desfecho principal e cálculo do tamanho amostral	10
3.4	Grupos de estudo	10
3.4.1	Grupo controle	10
3.4.2	Grupo Intervenção	11
3.5	Avaliação antropométrica	13
3.6	Avaliação bioquímica	14
3.7	Avaliação de consumo alimentar	15
3.8	Controle de qualidade	16
3.9	Avaliação de aceitabilidade e adesão à intervenção	16
3.9.1	Grupo focal	17
3.9.2	Organização dos grupos	17
3.9.3	Condução dos grupos	18
3.10	Processamento e análise dos dados	19
4	CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	21
5	ORÇAMENTO.....	22
	REFERÊNCIAS.....	23

1. INTRODUÇÃO

A anemia na infância é considerada um problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, afetando cerca de 293 milhões de crianças em idade pré-escolar¹. Nas últimas décadas, inúmeras estratégias de prevenção e controle foram adotadas por diversos países, porém poucos foram os avanços conquistados na redução da prevalência de anemia¹. A anemia pode ser determinada por diversos fatores, contudo a principal causa é a deficiência de ferro. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima, em média, a prevalência da deficiência de ferro em 2,5 vezes maior que a prevalência de anemia observada em crianças menores de 2 anos, atribuindo cerca de 50% dos casos de anemia à deficiência de ferro^{2,3}. Embora a ferropenia decorrente tanto do baixo consumo de ferro como de sua biodisponibilidade na dieta responda como a principal causa, sobretudo em populações pobres, são muitos os fatores associados a esse desfecho como causas genéticas, infecções, malária e deficiência de outros micronutrientes^{3,4}.

No Brasil, a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde - PNDS 2006⁵ avaliou, pela primeira vez em inquérito nacional, a prevalência de anemia em crianças de 6 a 59 meses. No total, 20,9% das crianças avaliadas estavam anêmicas, ou seja, aproximadamente 3 milhões de crianças brasileiras. As maiores prevalências foram observadas no Nordeste (25,5%), Sudeste (22,6%) e Sul (21,5%). A região Norte (10,4%) e a região Centro-Oeste (11,0%) apresentaram as prevalências mais baixas.

Em recente artigo de revisão com 53 estudos realizados no Brasil no período de 1996 a 2007, a prevalência média de anemia em crianças de 6 a 59 meses foi de 53%, observando-se as maiores prevalências em crianças menores de 24 meses⁶. Outro trabalho de revisão encontrou que a prevalência de anemia em crianças frequentadoras de creches e escolas foi de 52,0%, em serviços de saúde 60,2%, em populações em iniquidades sociais 66,5% e em inquéritos de base populacional 40,1%⁷.

No Brasil, alguns estudos observaram que a deficiência de ferro é a principal causa da anemia em crianças menores de dois anos^{8,9,10,11,12,13}. A contribuição da deficiência de outros micronutrientes na etiologia da anemia tem sido considerada em estudos recentes^{14,15,16,17}. Dentre as possíveis

hipóteses para explicar a discordância entre baixa concentração de hemoglobina sanguínea e presença de reservas orgânicas adequadas de ferro incluem possível deficiência de outros micronutrientes e prejuízos no transporte do ferro. Sabe-se que alguns micronutrientes são importantes para o metabolismo do ferro e, portanto, em condições de deficiência de micronutrientes como vitamina A, B12 e folato, por exemplo, reservas de ferro corporal podem não ser adequadamente mobilizadas^{14,15,16}.

Atualmente no país são adotadas três estratégias de prevenção e controle da anemia: a educação alimentar, a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho e a suplementação preventiva para grupos vulneráveis.

A educação alimentar vem sendo adotada na atenção básica de acordo com a publicação técnica “Dez passos da alimentação saudável para crianças menores de dois anos” e na Estratégia Nacional para Promoção da Alimentação Complementar Saudável.

A fortificação das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico foi instituída a partir de junho de 2004 estabelecendo 4,2 mg de ferro e 150 µg de ácido fólico por 100g das farinhas de trigo e de milho. De acordo com estimativa de Bell & Oakley Jr.¹⁸, 27% da população mundial têm acesso à farinha fortificada com ferro e/ou ácido fólico. A fortificação das farinhas com ácido fólico produziu resultados positivos nos EUA, Canadá e Chile, com redução da ocorrência de defeitos do tubo neural em recém-nascidos. No entanto, a fortificação das farinhas com ferro na prevenção da anemia na infância sugere baixa efetividade. No Brasil, um estudo de avaliação do impacto da fortificação das farinhas com ferro não observou efeito na concentração de hemoglobina em crianças menores de 6 anos¹⁹.

Já o Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF) prevê suplementação universal de sulfato ferroso a crianças menores de 18 meses, gestantes e lactantes^{20,21,22,23}. Nos últimos 150 anos, o xarope de sulfato ferroso é usado como a principal estratégia para a prevenção e tratamento da anemia por deficiência de ferro em crianças, com baixa efetividade²⁴. A limitada adesão ao uso de sulfato ferroso tem sido frequentemente atribuída à combinação de diversos fatores: gosto desagradável, escurecimento dos dentes e fezes, ocorrência de diarreia ou obstipação e, quando oferecido em

altas doses, pode causar desconforto abdominal. O PNSF utiliza um xarope com sabor laranja cuja dosagem prescrita pelo programa é de 25mg de ferro elementar uma vez por semana. No entanto, alguns estudos mostram divergências quanto à efetividade da suplementação semanal com sulfato ferroso na prevenção da anemia, conforme adotado no programa nacional brasileiro²⁴⁻²⁷.

Estudo realizado no Brasil reforça a hipótese do papel de outros micronutrientes na etiologia da anemia. Em ensaio clínico randomizado, duplo cego e controlado, no início do estudo a prevalência de anemia entre os lactentes foi de 56%. Ao final do estudo, a redução da prevalência de anemia foi maior entre os lactentes que receberam tratamento com sulfato ferroso e ácido fólico (14%) quando comparadas às crianças que receberam apenas sulfato ferroso (35%)²⁸.

Assim, com base em evidências recentes, publicação técnica da OMS¹ analisou a adoção de estratégias complementares na prevenção e controle da anemia em crianças de 6 a 23 meses, sugerindo o uso de múltiplos micronutrientes em fortificação caseira integrada às ações básicas de atenção à saúde¹. Acredita-se que ingestão insuficiente de ferro da dieta pode ser acompanhada em muitos casos de ingestão limítrofe ou insuficiente de outros micronutrientes necessários para o metabolismo do ferro e para o crescimento e desenvolvimento adequados^{29,30}.

A estratégia de prevenção da anemia em crianças a ser avaliada no presente estudo consiste na fortificação caseira diária com múltiplos micronutrientes na forma de pó, adicionado à alimentação complementar da criança. Essa estratégia utiliza sachês com uma mistura de vitaminas e minerais na forma de pó que podem ser facilmente acrescentados e misturados às preparações alimentares. Nos sachês, o ferro (na forma de fumarato ferroso) é encapsulado em uma camada de lipídio para prevenir sua interação com os alimentos e, conseqüentemente, modificação da textura dos alimentos^{1,31}. Duas formulações foram desenvolvidas e são comumente utilizadas: (1) formulação para a prevenção da anemia nutricional com cinco micronutrientes e (2) formulação completa com 15 micronutrientes³². A eficácia biológica, biodisponibilidade, segurança e aceitabilidade foram testadas em diversos cenários, incluindo países desenvolvidos e em desenvolvimento³³.

Revisão sistemática³⁴ sobre fortificação caseira sugere que a fortificação caseira é tão efetiva como a suplementação com ferro no tratamento da anemia; no entanto, a fortificação caseira tem melhor aceitação em função dos reduzidos efeitos colaterais, recomendando-se a fortificação caseira para o tratamento da anemia. O estudo também mostrou que a fortificação caseira é efetiva na prevenção da deficiência de ferro e na anemia ferropriva, estimando-se redução desses distúrbios pela metade. Há evidências de impacto no desenvolvimento infantil e na ocorrência de morbididades. No entanto, o efeito da fortificação caseira nos níveis plasmáticos de Zinco e Vitamina A não são convincentes. Também ainda não são claros os efeitos dessa estratégia no perfil de crescimento e apenas um estudo avaliou o custo-efetividade dessa estratégia, sugerindo ser melhor quando comparado a outras estratégias.

Considerando-se a diversidade do nosso país e tendo em vista o compromisso ético-político de construção coletiva, gestores do Ministério da Saúde envolvidos com o PNSF e consultores nacionais, reunidos para debates no ano de 2010, concluíram que a melhor estratégia para avaliação da proposta de fortificação com múltiplos micronutrientes em pó seria por meio da execução de um Estudo Multicêntrico. Para possibilitar a futura incorporação da fortificação caseira como estratégia programática de prevenção da anemia na infância na saúde pública brasileira, se faz necessário a condução de estudos para avaliar o efeito da nova intervenção em diferentes realidades brasileiras, já que essas são fortemente influenciadas pelas condições sociais e culturais que precisam ser criteriosamente avaliadas sob condições da vida real.

O presente estudo tem como objetivo avaliar a efetividade, aceitação e adesão da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da anemia e deficiência de ferro em crianças menores de um ano segundo modelo de atenção básica (Tradicional e Estratégia Saúde da Família).

2. OBJETIVOS

Avaliar a efetividade da fortificação caseira com vitaminas e minerais na prevenção da anemia e deficiência de ferro em crianças menores de um ano em cidades brasileiras.

2.1 *Objetivos específicos:*

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

3. INDIVÍDUOS E MÉTODOS

3.1 Delineamento e população de estudo

Trata-se de estudo multicêntrico a ser realizado em três cidades brasileiras (Goiânia, Olinda e Rio Branco) selecionadas pelo Ministério da Saúde. O delineamento do estudo será do tipo ensaio de campo pragmático em conglomerados constituídos por Unidades Básicas de Saúde (UBS) da rede pública segundo modelo da atenção básica (Tradicional e Estratégia Saúde da Família) nos três municípios selecionados (Figura 1). Para o centro colaborador de Goiânia, o estudo será desenvolvido em Unidades de Saúde Tradicionais e em área com Estratégia Saúde da Família para verificar a logística de implantação da estratégia de fortificação caseira nos dois modelos de atenção da rede básica de saúde. Nos demais centros colaboradores, serão utilizados o modelo Tradicional em Rio Branco e o modelo Estratégia Saúde da Família em Olinda.

Goiânia, capital do estado de Goiás, localiza-se na região Centro-Oeste do país, possui 1.301.892 habitantes e um Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) de 0,832. Olinda, município da Região Metropolitana de Recife do estado de Pernambuco, localiza-se na região Nordeste do país, com uma população de 375.559 habitantes (Censo 2010) e um IDH-M de 0,801. Rio Branco, capital do estado do Acre, localiza-se na região Norte do Brasil, com 335.796 habitantes, quase metade da população estadual e um IDH-M de 0,754.^{35,36}. Em cada centro do estudo serão selecionadas unidades de saúde com maior número de crianças menores de um ano cadastradas no serviço. Após convite à participação e consentimento dos pais ou responsáveis pela criança, em cada modelo de atenção básica cerca de 300 crianças serão alocadas em dois grupos: controle (crianças de 12 a 14 meses de idade) e intervenção (crianças de 6 a 8 meses de idade), segundo os critérios de inclusão e exclusão do estudo. Os entrevistadores se identificarão, explicarão os objetivos e benefícios da pesquisa e solicitarão consentimento esclarecido aos pais ou responsável pela criança, assegurando-se sigilo das informações obtidas e apresentação dos resultados individuais e da pesquisa oportunamente. Todos os participantes do estudo serão informados sobre risco

mínimo associado à coleta de sangue com material descartável e benefícios (avaliação nutricional individual e colaboração na definição de estratégias para prevenção de anemia e deficiência de ferro na infância). O projeto de pesquisa será analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

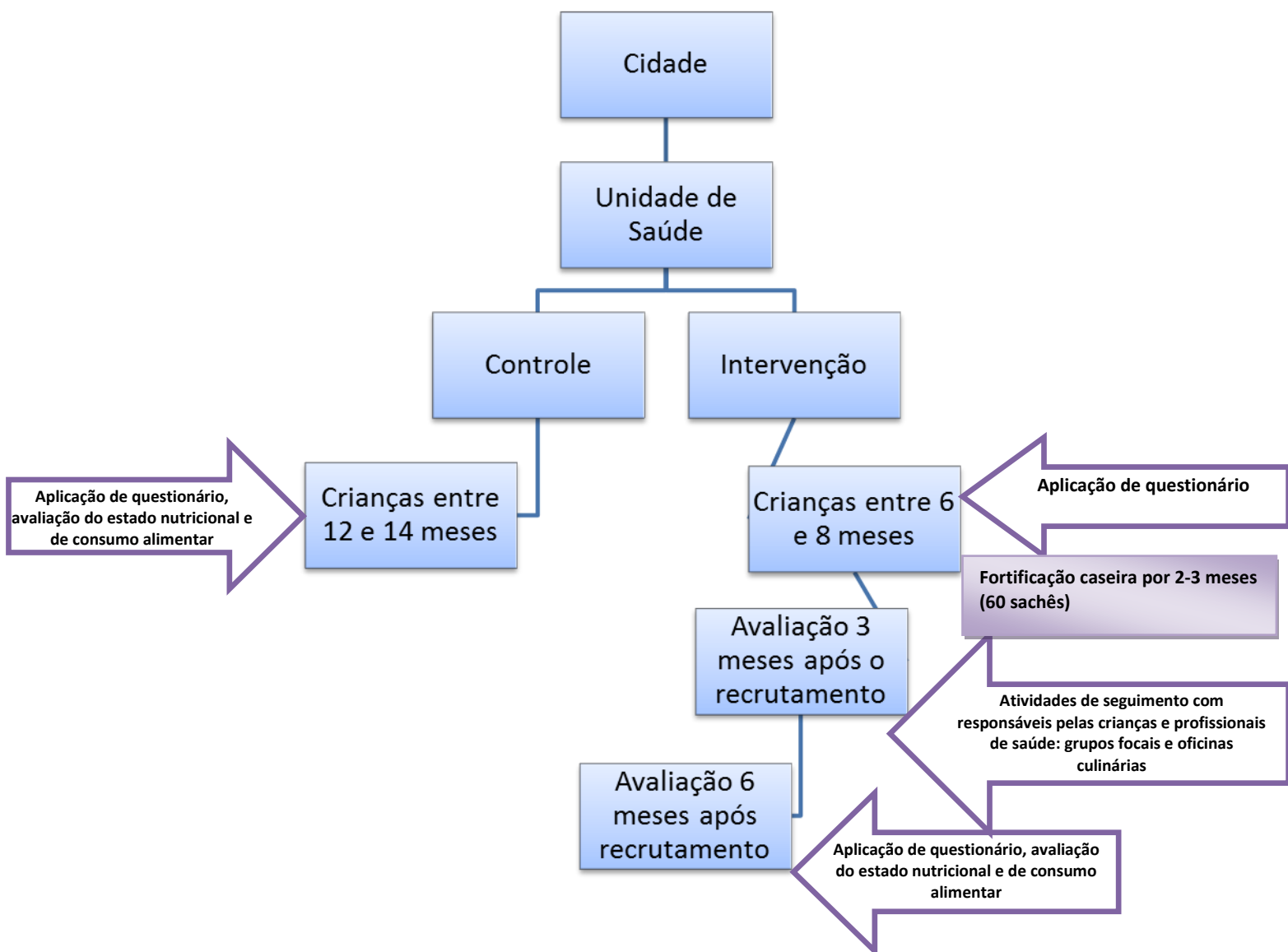


Figura 1 – Delineamento do estudo em cada um dos três centros colaboradores.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão do estudo

Serão elegíveis ao estudo crianças entre 6 e 8 meses idade (Grupo Intervenção) e entre 12 e 14 meses de idade (Grupo Controle) residentes no território das UBS selecionadas e que não estiverem fazendo uso de suplemento de ferro no momento do recrutamento.

Serão excluídas do estudo crianças com malária, portadoras de HIV, tuberculose, hemoglobinopatias e as que estiverem em tratamento da anemia no momento inicial da pesquisa.

3.3 Desfecho principal e cálculo do tamanho amostral

Para o cálculo do tamanho da amostra foi considerando como desfecho principal do estudo aumento na concentração média de hemoglobina sanguínea. Para um poder de teste de 95% e nível de significância de 5% (bicaudal) serão necessárias 105 crianças em cada grupo para detectar diferença de 6 g/L entre médias de hemoglobina, estimando-se desvio-padrão de 12 g/L. Com acréscimo de 30% para cobrir eventuais perdas de seguimento, o tamanho amostral será de 135 crianças em cada grupo experimental (controle ou intervenção)³⁷. Ao todo, serão recrutadas 270 crianças em Rio Branco (modelo de atenção Tradicional), 270 em Olinda (modelo de atenção Estratégia Saúde da Família) e 540 em Goiânia (modelos Tradicional e Estratégia Saúde da Família), totalizando 1080 crianças nos três centros.

3.4 Grupos de estudo

3.4.1 Grupo Controle

O grupo controle será constituído no início do estudo com crianças de 12 a 14 meses atendidas em unidade básica de saúde (UBS) na rotina tradicional de puericultura. Será utilizado um questionário sobre condições socioeconômicas, demográficas, maternas e familiares, morbidades, alimentação e nutrição da criança. Medidas antropométricas das crianças e de suas mães serão aferidas. Amostras de sangue venoso serão obtidas em jejum para avaliação bioquímica.

As crianças do grupo controle com diagnóstico de anemia, deficiência de ferro ou deficiência de vitamina A serão encaminhadas para tratamento pela

equipe de profissionais da UBS com o xarope de sulfato ferroso ou suplemento de vitamina A conforme necessidade.

3.4.2 Grupo Intervenção

- Recrutamento e intervenção

As crianças entre 6 e 8 meses de idade atendidas nas UBS serão convidadas para participar do estudo de intervenção. Um questionário inicial será utilizado para obter informações sobre fatores socioeconômicos, demográficos, maternos e familiares, condições de saúde, alimentação e nutrição da criança. Serão também aferidas as medidas antropométricas das crianças e de suas mães.

Em seguida, os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) entregarão aos pais e/ou responsáveis pela criança 60 *sachês* contendo o complexo de vitaminas e minerais (Quadro 1), que deverão ser oferecidos às crianças junto com a alimentação diariamente, no máximo, por 2 a 3 meses. Na ocasião os pais ou responsáveis serão orientados quanto às práticas saudáveis de aleitamento materno e alimentação complementar. Oficinas culinárias sobre preparo de papas com alimentos regionais para promoção da alimentação complementar saudável serão organizadas com responsáveis e profissionais de saúde. O *sachê* deverá ser adicionado aos alimentos semi-sólidos (papas de fruta e papas salgadas) na hora de servir^{1,31}, evitando-se aquecimento do alimento com o complexo de vitaminas e minerais. Temperaturas acima de 60°C podem derreter a camada protetora em torno do ferro levando a alteração na cor e no cheiro da comida. Após a adição do suplemento, o alimento deverá ser consumido dentro de uma hora³⁸.

No modelo de atenção Estratégia da Família, visitas domiciliares mensais serão realizadas pelos ACS para sensibilização ao uso e importância dos *sachês* com vitaminas e minerais, além das orientações rotineiras sobre práticas saudáveis de aleitamento materno e alimentação complementar. No modelo de atenção Tradicional, as famílias serão orientadas a retornar a UBS para acompanhamento. Os participantes serão avaliados 6 meses após início da intervenção para fins de comparação com o grupo controle (faixa etária de 12 a 14 meses). O período de 6 meses para avaliação pós-intervenção com 60

sachês é considerado suficiente para manter os níveis de hemoglobina normais³¹.

Durante o período da suplementação dos sachês e no seguimento até o término da intervenção, as equipes de profissionais serão orientadas para proceder o acompanhamento das crianças de acordo com normas e condutas de tratamento de enfermidades, incluindo as nutricionais, previstas no plano de ações do município, em conformidades com as orientações do Ministério da Saúde. As intercorrências serão documentadas pela equipe de pesquisa e levadas em consideração na análise dos resultados da intervenção em estudo.

A formulação do sachê, abaixo descrita, segue a composição adotada pela UNICEF e recomendada atualmente para estudo de intervenção.

Quadro 1 – Formulação completa recomendada para a prevenção da anemia

Micronutriente	Quantidade
Ferro	10 mg
Zinco	4,1 mg
Ácido fólico	150 µg
Vitamina A	400 µg RE
Vitamina C	30 mg
Vitamina D3	5 µg
Vitamina E	6 mg TE
Vitamina B1	0,5 mg
Vitamina B2	0,5 mg
Vitamina B6	0,5 mg
Vitamina B12	0,9 µg
Niacina	6 mg
Cobre	0,56 mg
Iodo	90 µg
Selênio	17 µg

Fonte: Satche Mix Me, produzido pela DSM *Nutritional Products Europe Ltd.*

- Seguimento (3 meses após intervenção)

As crianças serão avaliadas três meses após o início da intervenção pela equipe de pesquisa. Os pais e/ou responsáveis pelas crianças responderão sobre perfil de saúde, alimentação e nutrição da criança desde o recrutamento, além de questões sobre aceitação e adesão ao uso do *sachê* com vitaminas e minerais e sobre possíveis efeitos colaterais.

Nesta etapa será desenvolvido grupo focal com pais ou responsáveis e com profissionais de saúde sobre a adesão à estratégia de suplementação, buscando identificar os fatores limitantes e facilitadores.

- Avaliação final (6 meses após intervenção)

Após 6 meses do início da intervenção, as crianças, que terão idade entre 12 e 14 meses, serão avaliadas quanto à efetividade da suplementação com vitaminas e minerais.

Inicialmente, os pais e/ou responsáveis pelas crianças responderão sobre a saúde, alimentação e nutrição da criança desde a última visita (3 meses após o início da intervenção). Para fins de comparação com os dados do Grupo Controle, será utilizado o mesmo questionário sobre condições socioeconômicas, demográficas, maternas e familiares, morbidades, alimentação e nutrição da criança. Medidas antropométricas das crianças e de suas mães serão aferidas. Amostras de sangue venoso serão também obtidas em jejum para avaliação bioquímica.

As crianças do grupo intervenção que forem diagnosticadas com anemia, deficiência de ferro ou deficiência de vitamina A ao término do estudo (entre 12 e 14 meses de idade) serão encaminhadas para tratamento pela equipe de profissionais da UBS com xarope de sulfato ferroso ou com suplemento de vitamina A conforme necessidade.

3.5 Avaliação antropométrica

Medidas de peso e altura serão realizadas em duplicatas e de modo sequencial utilizando-se procedimentos padronizados³⁹. O valor médio das duas medições será considerado para análise.

Para medida de peso, será utilizada balança eletrônica marca Seca com capacidade de 150 kg e sensibilidade de 100g. As crianças serão pesadas e medidas sem fralda completamente despidas, na presença da mãe ou do responsável. A medida do peso será obtida com a criança no colo da mãe e posteriormente será descontado o peso da mãe.

O comprimento será avaliado por meio de infantômetro portátil (Alturaexata ou Sanny), com extensão de um metro e precisão de 0,1 cm. As crianças serão medidas em decúbito dorsal e o valor registrado em centímetros.

Para avaliação do estado nutricional serão utilizados os índices peso/idade (P/I), peso/estatura (P/E) e estatura/idade (E/I) expressos em média de escore z, adotando-se como referência as curvas de crescimento da Organização Mundial da Saúde. Com a utilização do programa WHO Anthro⁴⁰, valores iguais ou inferiores a - 2 escores z serão classificados como déficit nos índices avaliados.

3.6 Avaliação bioquímica

Amostras de até 10 mL de sangue venoso em jejum serão coletadas nas UBS ou no Laboratório, de acordo com a preferência da mãe, por técnicos devidamente treinados e com experiência na coleta de sangue de crianças. As crianças com febre (temperatura acima de 37,5° C) no dia da coleta do sangue será reagendada para colheita em nova data. O volume de sangue obtido será distribuído em 2 tubos de ensaio: a) tubo seco para obtenção do soro (envolto por papel alumínio para proteção da luz), mantido em temperatura ambiente para centrifugação em até 1 hora após a coleta; b) tubo com EDTA para obtenção do plasma, mantido em gelo até centrifugação. Após centrifugação e separação do plasma e do soro, ambos serão congelados e transportados para o laboratório de Nutrição Humana do Departamento de Nutrição (FSP/USP) onde serão armazenados a -70°C. A determinação de hemoglobina sanguínea será realizada no dia da coleta de sangue nos três centros colaboradores por hemoglobímetro portátil da marca Hemocue. Para definição de anemia em crianças acima de 6 meses de idade será adotado o valor-limite de concentração de hemoglobina de 110 g/L, estabelecido pela OMS².

Determinação da concentração sérica de ácido fólico e vitamina B12 será realizadas por técnica de fluoroimunoensaio (kits PerkinElmer, Wallac Oy, Turku, Finland). Análises da concentração sérica de retinol, β -caroteno, α -tocoferol e vitamina 25(OH) D3 serão realizadas por cromatografia líquida de alta performance em fase reversa (HPLC-110, Hewlett-Packard, Estados Unidos). Crianças com concentração de retinol sérico inferior a $0,7\mu\text{mol/L}$ serão consideradas com deficiência de vitamina A⁴¹. Para a avaliação de reservas orgânicas de ferro, a determinação plasmática de ferritina e de receptor de transferrina utilizará *kits* pela técnica de ELISA (Ramco Laboratories, EUA), juntamente com a determinação de proteína C reativa por método ultrasensível (quimioluminescência), conforme recomendação da OMS². Para classificação de deficiência de ferro, serão considerados: a) “normais”- crianças com hemoglobina $> 110\text{ g/L}$ e ferritina $> 12\text{ ng/L}$; b) “anemia ferropriva”- hemoglobina $< 110\text{ g/L}$, ferritina $< 12\text{ ng/L}$ e/ou receptor de transferrina $> 8,3\text{ }\mu\text{g/mL}$; c) “deficiência de ferro” - hemoglobina $> 110\text{ g/L}$, ferritina $< 12\text{ ng/L}$ e/ou receptor de transferrina $> 8,3\text{ }\mu\text{g/mL}$ ^{42,43}.

3.7 Avaliação de consumo alimentar

O consumo alimentar será avaliado por meio do registro do consumo habitual de alimentos e bebidas durante 24 horas, segundo o proposto por Wharf et al.⁴⁴ e adaptado em estudos brasileiros^{17,43}. Nesta técnica interroga-se “*Quais alimentos ou bebidas a criança costuma comer ou beber?*”, do momento em que acorda até a hora de dormir, e se costuma consumir ou beber algo durante a noite. As quantidades de alimentos relatadas em medidas caseiras, pelas mães ou responsáveis, serão convertidas em equivalentes em gramas ou mililitros, utilizando-se tabelas específicas. As preparações citadas serão desmembradas em ingredientes para cálculo de valor nutricional.

O volume de leite materno consumido será estimado segundo equação proposta por Drewett et al.⁴⁵, a qual considera que o número de mamadas em 24 horas, combinado com a idade do bebê pode oferecer o volume de leite materno consumido ($Y = 489 + 0.63X' + 13.45X''$, onde Y é preditor de consumo de leite materno, X' é idade em dias e X'' é o número de mamadas).

A análise nutricional das dietas será realizada no programa World Food Dietary Assessment System versão 2.0. A tabela de composição de alimentos será complementada com o valor nutricional do leite materno, conforme a tabela de composição de alimentos do Departamento de Agricultura Americano⁴⁶, com conteúdos de ferro e de ácido fólico das farinhas fortificadas do Brasil, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária⁴⁷. Para classificação da biodisponibilidade de ferro, será utilizado o percentual de ferro absorvível, estimado conforme critérios de classificação adotados em publicação da OMS: muito baixa: ~5% ou menos; baixa: ~10%; moderada: ~12%; alta: ~15% ou mais⁴⁸.

3.8 Controle de qualidade

Os entrevistadores do projeto e ACS receberão manual com orientações para preenchimento do formulário e serão previamente treinados para as entrevistas e mensurações. Será realizada confirmação dos dados coletados em 5% da amostra por telefone.

Os profissionais de saúde das UBS também responderão a um questionário sobre logística e percepção da estratégia.

3.9 Avaliação de aceitabilidade e adesão à intervenção

A avaliação da adesão e da aceitabilidade será realizada pela utilização de formulários contendo questões sobre a percepção sobre a mudança no sabor, cor ou consistência da comida e também sobre a facilidade de uso e aumento do apetite da criança. A adesão também será avaliada pelo número de sachês utilizados dividido pelo número de sachês indicados para o uso.

Será também avaliada a percepção de efeitos colaterais como diarreia ou constipação, desconforto geral, escurecimento das fezes e dos dentes²⁹.

Serão também avaliados os benefícios percebidos pelas mães como: se gostou de oferecer o suplemento, se considera que beneficiou a saúde do filho. Essas questões serão avaliadas aos três meses através de grupos focais de mães/responsáveis.

3.9.1 Grupo Focal

Por ser a adesão aos programas de intervenção em saúde um fenômeno complexo e multidimensional, no qual aspectos biológicos, psicológicos, sociais e econômicos interagem para determinar as práticas individuais e coletivas, optou-se também pela realização de uma abordagem qualitativa com a finalidade de analisar significados, motivos, aspirações, crenças, valores, atitudes e percepções dos atores envolvidos na estratégia de fortificação domiciliar de micronutrientes⁴⁹.

Segundo Krueger⁵⁰ a técnica de grupo focal é um método que pode ser utilizado no estudo das diferentes percepções e atitudes acerca de um fato, prática, produto ou serviços. Pode ter função complementar a outras metodologias ou ser a modalidade específica na abordagem qualitativa. Por esta razão, o grupo focal é utilizado para aprofundar-se no conhecimento das ações humanas e formular questões sobre crenças, atitudes e percepções de grupos específicos além de desenvolver hipóteses para outros estudos, sendo cada vez mais utilizado como técnica exclusiva nesse tipo de pesquisa⁵¹.

3.9.2 Organização dos grupos

Na pesquisa qualitativa a amostragem não se prende ao critério numérico, mas aos indivíduos sociais que têm uma vinculação significativa ao problema investigado. Segundo Deslandes, Gomes e Minayo⁵², boa amostragem é aquela que possibilita abranger a totalidade do problema investigado em suas múltiplas dimensões.

No método do grupo focal, as discussões devem ser conduzidas várias vezes, com diferentes grupos, com a finalidade de identificar tendências e padrões na percepção do que se definiu como foco do estudo⁵³. Enquanto Morgan⁵¹ coloca que são necessários de 3 a 5 grupos focais para promover um entendimento amplo sobre um assunto.

Para o estudo da percepção dos profissionais de saúde e das mães sobre a estratégia de fortificação domiciliar de ferro serão formados grupos focais nos três centros participantes da pesquisa. Em Goiânia serão formados doze grupos focais, com seis grupos em cada modalidade de atendimento na Atenção Básica (Tradicional e Estratégia Saúde da Família), sendo três grupos com as mães e três com os gestores e profissionais de saúde. Já em Olinda e

Rio Branco serão formados seis grupos em cada localidade, três grupos com as mães e três com os gestores e profissionais de saúde.

Para o grupo focal dos profissionais de saúde, serão convidados os médicos, enfermeiros, auxiliares de enfermagem e agentes comunitários de saúde e gestor das unidades de saúde, envolvidos no estudo. Enquanto que para o grupo focal das mães, serão convidadas mães de diferentes faixas etárias e número de filhos. Estas mães serão contactadas, por meio de visita domiciliar, uma semana antes do primeiro encontro, sendo a participação previamente confirmada, via telefone, com o intuito de garantir a presença de todas.

Cada grupo focal deverá conter cerca de 10 integrantes, que se reunirá em sessão única, entre os meses de maio a julho de 2012.

3.9.3 Condução dos grupos

Os grupos focais ocorrerão nas dependências das Unidades de Saúde participantes do estudo, por ser local de fácil acesso, em sala que preserve a privacidade dos participantes e sem ruídos, uma vez que as reuniões serão gravadas, com a autorização dos participantes. As reuniões ocorrerão em data e horário previamente agendados.

Após o consentimento, será preenchida uma ficha de identificação com a finalidade de descrever o perfil dos participantes.

Os grupos focais serão conduzidos em cada centro por equipes capacitadas, formadas por um moderador e um observador. O moderador será responsável por incluir as questões norteadoras, por encorajar os participantes a expressarem suas opiniões livremente e por direcionar a discussão. Já o observador registrará todos os acontecimentos no campo grupal, incluindo aspectos não verbais presentes na comunicação dos participantes, e se responsabilizará também pela gravação das falas. Após cada sessão, moderador e observador deverão elaborar uma síntese com as impressões observadas nos grupos.

Para a discussão do assunto objeto do estudo serão apresentadas as seguintes questões norteadoras:

Grupo focal com os profissionais de saúde e gestores

- Gostaria que vocês comentassem sobre como as mães foram orientadas sobre o uso do sachê de fortificação domiciliar de ferro.
- Comentem sobre como tem sido a aceitação do produto pelas mães? E pelas crianças?
- Partindo da experiência com a distribuição deste produto, quais fatores podem facilitar a estratégia de distribuição dos sachês? E dificultar?
- O que vocês diriam se a partir de hoje, o xarope do Programa Nacional de Suplementação de Ferro fosse substituído pelos sachês de fortificação domiciliar.

Grupo focal com as mães

- Que orientação vocês receberam para o uso deste produto? (apresentar o produto)
- Como vocês estão dando este produto para as crianças?
- Falem-me sobre como tem sido a aceitação das crianças? Qual a melhor forma da criança aceitar?
- Partindo da experiência com o uso do sachê, o que vocês acham que foi fácil na utilização deste produto durante estes meses? E o que foi difícil?

3.10 Processamento e análise dos dados

Os dados quantitativos serão digitados seguindo o procedimento de dupla entrada no programa *Epi-Info* 6.04. Após o processo de digitação, os dados serão transportados para o programa estatístico *Stata*TM 12.0 para edição e análises estatísticas. As frequências relativas e absolutas, médias (desvios-padrão) e medianas (intervalos interquartis) serão calculadas para as variáveis quantitativas analisadas, ao nível de significância $\alpha=0,05$.

A análise da efetividade e impacto da fortificação caseira na redução da deficiência de ferro, elevação dos níveis de hemoglobina e prevalência da anemia será realizada comparando-se os parâmetros hematológicos e

bioquímicos entre o grupo intervenção (aos seis meses após o início da intervenção) e o grupo controle avaliado paralelamente ao recrutamento do grupo de intervenção, ambos os grupos com crianças entre 12 e 14 meses. Os grupos experimentais serão comparados no total e também estratificados por modelo de atenção básica à saúde em cada centro colaborador.

A avaliação qualitativa dos dados dos grupos focais será realizada por meio da técnica de análise de conteúdo. A análise de conteúdo PE definida por Bardin ⁵³ : *“um conjunto de técnicas de análise das comunicações visando a obter, por procedimentos sistemáticos e objetivos de descrição do conteúdo das mensagens, indicadores (quantitativos ou qualitativos) que permitem inferência de conhecimentos relativos às condições de produção e recepção destas mensagens”*. Para essa análise, operacionalmente será utilizada a modalidade temática proposta por Minayo, Deslandes e Gomes⁵⁴ que consiste em: 1) Pré-análise, por meio da leitura e releitura flutuante nos textos transcritos e posterior elaboração do material lido; 2) Exploração do material, onde os dados brutos serão transformados em unidades de registros (palavras, frases), o que permitirá a classificação em unidades de contexto, que por sua vez permitirão a criação das categorias temáticas e, 3) Inferência e Interpretação das categorias temáticas.

4. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

ATIVIDADES	MESES														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Amostragem	X														
Recrutamento, treinamento e padronização dos entrevistadores	X														
Oficina com profissionais das UBS para orientação do estudo e estratégia		X	X												
Recrutamento e aplicação do inquérito inicial e avaliação antropométrica (grupos controle e intervenção) e bioquímica (controle)			X	X	X	X									
Suplementação com vitaminas e minerais - grupo intervenção			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Aplicação do inquérito intermediário - grupo intervenção					X	X	X								
Realização dos grupos focais						X	X	X							
Aplicação do inquérito final e avaliação antropométrica e bioquímica - grupo intervenção									X	X	X	X			
Tabulação e análise dos dados						X	X	X	X	X	X	X			
Elaboração relatório final											X	X	X		
Elaboração de artigos científicos													X	X	X
Organização de seminários de divulgação dos resultados														X	X

5. ORÇAMENTO DO PROJETO

5.1 Orçamento de custeio e capital sem bolsas – valores em reais:

Componentes do Orçamento - Custeio e Capital	USP- coord	Goiânia	Olinda	Rio Branco	TOTAIS
1. Material de consumo adquirido no país					
materiais descartáveis para coleta, processamento, transporte e armazenamento de amostras	3000	8000	4000	4000	19000
microcuvetas para dosagem de hemoglobina por hemocue	0	3200	1600	1600	6400
kits para dosagem de folato e vitamina B12	20000	0	0	0	20000
Alimentos e bebidas para pós-coleta de sangue		5000	2500	2500	10000
					0
Subtotal do item 1	23000	16200	8100	8100	55400
2. Material de consumo adquirido no exterior					0
kits da RAMCO Lab para dosagens de ferritina e receptor de transferrina	25000	0	0	0	25000
					0
Subtotal do item 2	25000	0	0	0	25000
3. Serviços de terceiros					0
Determinação plasmática de proteína C reativa	30000	0	0	0	30000
Hemograma completo a ser realizado em cada centro	0	10000	5000	5000	20000
Determinação sérica de vitaminas (beta-caroteno, retinol, vitamina S E e D)	60000				60000
Coleta de sangue a ser executada por auxiliar de enfermagem treinado	0	9000	4500	4500	18000
Serviços de reprografia, impressos e folhetos	2000	10000	5000	5000	22000
Técnico de laboratório para separação de soro no dia da coleta de sangue	0	11200	5200	5200	21600
Técnico de laboratório para análises em São Paulo	30000	0	0	0	30000
Gerente de projeto e estatístico para processamento e análise de dados	48000	0	0	0	48000
Serviços técnicos para oficinas culinárias		10000	5000	5000	20000
Serviços técnicos para realização de grupos focais	0	18000	9000	9000	36000
Serviços técnicos de revisão de inglês e divulgação de resultados	2020	0	0	0	2020
Material promocional (Camisetas e aventais do projeto)	0	3000	1500	1500	6000
Transporte aéreo de duas remessas tradicional, manutenção de ultrafreezer	4500	220	640	520	5880
Subtotal do item 3	176520	71420	35840	35720	319500
4. Material Permanente					0
Computadores		4300	4300	4300	12900
impressora HP multifuncional Laserjet		1600	1600	1600	4800
Hemocue modelo 310 B		6000	3000	3000	12000
Balança antropométrica digital portátil marca Seca		15000	7500	7500	30000
Antropômetro marca Sanny		2400	1200	1200	4800
Subtotal do item 4	0	29300	17600	17600	64500
5. Diárias e despesas de transporte					0
Transporte de pais ou responsáveis e membros da equipe em trabalho de campo	0	18000	9000	9000	36000
Locação de veículo por 176 dias para trabalho de campo	0	64000	52800	64000	180800
Diárias para reuniões coordenação do projeto e reuniões científicas	4000	8000	4000	4000	20000
Passagens para coordenação do projeto e reuniões científicas	6000	12000	6000	6000	30000
Subtotal do item 5	10000	102000	71800	83000	266800
TOTAL GERAL	234520	218920	133340	144420	731200

5.2 Bolsas de apoio à pesquisa para trabalho de campo:

- 8 bolsas de Extensão no país Tipo C por 24 meses cada para supervisão de trabalho de campo em todos os centros de realização do projeto (acompanhamento de coleta, processamento e análise de dados, supervisão de entrevistas e controle de qualidade).

- 12 bolsas de Apoio Técnico em extensão no país por 12 meses cada para realização de entrevistas nos centros colaboradores do projeto.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Use of multiple micronutrient powders for home fortification of foods consumed by infants and children 6-23 months of age. Geneva: WHO; 2011.
2. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention, and Control. A guide for programme managers. Geneva: WHO; 2001.
3. World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell. Geneva: WHO; 2008.
4. Jones KM, Ramirez-Zea M, Zuleta C, Allen LH. Prevalent vitamin B-12 deficiency in twelve-month-old Guatemalan infants is predicted by maternal B-12 deficiency and infant diet. *J Nutr* 2007; 137: 1307-1313.
5. Ministério da Saúde (Brasil). Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília, DF: MS; 2009. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnds_crianca_mulher.pdf
6. Jordão RE, Bernardi JLD, Barros Filho A. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. *Rev Paul Pediatr* 2009; 27:90-8.
7. Vieira RCS, Ferreira HS. Prevalência de anemia em crianças brasileiras, segundo diferentes cenários epidemiológicos. *Rev Nutrição* 2010; 23:433-444.
8. Hadler CM, Juliano Y, Sigulem DM. Anemia do lactente: etiologia e prevalência. *J Pediatr* 2002; 78:321-6.
9. Almeida CAN, Ricco RG, Del Ciampo LA, Souza AM, Pinho AP, Dutra De Oliveira, JE. Fatores associados a anemia por deficiência de ferro em crianças pré-escolares brasileiras. *J Pediatr* 2004; 80:229-34.
10. Neves MBP, Silva EMK, MORAIS MB. Prevalência e fatores associados à deficiência de ferro em lactentes atendidos em um centro de saúde-escola em Belém, Pará, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21:1911-18.
11. Ferraz IS, Daneluzzi JC, Vannucchi H, Jordão-Junior AA, Ricco RG, Del Ciampo LA, et al. Prevalência da carência de ferro e sua associação com a deficiência de vitamina A em pré-escolares. *J Pediatr* 2005; 81:169-74.

12. Carvalho AGC, Lira PIC, Barro MFA, Aléssio MLM, Lima MC, Carbonneau MA, et al. Diagnóstico por deficiência de ferro em crianças do Nordeste do Brasil. *Rev Saúde Pública* 2010; 44:513-9.
13. Bortolini GA, Vitolo MR. Relação entre deficiência de ferro e anemia em crianças de até 4 anos de idade. *J Pediatr* 2010; 86: 488-492.
14. Thurlow RA, Winichagoon P, Green T, Wasantwisut E, Pongcharoen T, Bailey KB, et al. Only a small proportion of anemia in northeast Thai schoolchildren is associated with iron deficiency¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:380-7.
15. Villalpando S, Pérez-Expósito AB, Shamah-Levy T, Rivera JA. Distribution of anemia associated with micronutrient deficiencies other than iron in a probabilistic sample of Mexican children. *Ann Nutr Metab* 2006; 50:506-11.
16. Ferreira MU, Silva-Nunes M, Bertolino CN, Malafronte RS, Muniz PT, Cardoso MA. Anemia and iron deficiency in school children, adolescents and adults: a community-based study in Rural Amazonia. *Am J Public Health* 2007; 97: 237-9.
17. Castro T, Baraldi L, Muniz P, Cardoso M. Dietary practices and nutritional status of 0-24-month-old children from Brazilian Amazonia. *Public Health Nutr.* 2009; 12: 2335-42.
18. Bell KN, Oakley GP Jr. Update on prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2009; 85:102-7.
19. Assunção MCF, Santos IS, Barros AJD, Gigante DP, Victora CG. Effect of iron fortification of flour on anemia in preschool children in Pelotas, Brazil. *Rev Saúde Pública* 2007; 41: 1-9.
20. BRASIL, Ministério da Saúde. Regulamento Técnico para Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico. RDC 344, 13 dezembro de 2002.
21. Ministério da Saúde (Brasil). Manual operacional: Programa Nacional de Suplementação de ferro. Brasília, DF: MS; 2005. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/alimentacao/>>.
22. Ministério da Saúde (Brasil). Dez passos para uma alimentação saudável: guia alimentar para menores de dois anos: um guia para o profissional da saúde na atenção básica. Brasília, DF: MS; 2010. (Departamento de Atenção Básica. 2 ed.)
23. Ministério da Saúde (Brasil). Estratégia Nacional de Promoção da Alimentação Complementar Saudável. Brasília, DF: MS; 2010. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/alimentacao>>.

24. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341:1986-1995.
25. Bortolini GA, Vitolo MR. Baixa adesão à suplementação de ferro entre lactentes usuários de serviço público de saúde. *Pediatria* 2007; 29:176-82.
26. Engstrom EM, Castro IRR, Portela M, et al. Efetividade da suplementação semanal com ferro na prevenção da anemia em lactentes. *Rev Saúde Pública* 2008; 42: 786-95.
27. Eickmann SH, Brito CMM, Lira PIC, et al. Efetividade da suplementação semanal com ferro sobre a concentração de hemoglobina, estado nutricional e o desenvolvimento de lactentes em creches do Recife, Pernambuco, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2008; 24(supl. 2):303-11.
28. Stulbach TE. Avaliação do Programa Nacional de Suplementação de Ferro no controle de anemia, em crianças de 6 a 24 meses, assistidas nos Centros de Educação Infantil do município do [tese]. Goiânia: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2009.
29. Hadler MCCM, Sigulem DM, Alves MFC, et al. Treatment and prevention of anemia with ferrous sulfate plus folic acid in children attending daycare centers in Goiânia, Goiás State, Brazil: a randomized controlled trial. *Cad Saúde Pública* 2008; 24(supl. 2):259-71.
30. Fishman SM, Christian P, West KP. The role of vitamins in the prevention and control of anemia. *Public Health Nutr* 2000; 3:1225-50.
31. Allen LH, Peerson JM, Olney DK. Provision of multiple rather than two or fewer micronutrients more effectively improves growth and other outcomes in micronutrient-deficient children and adults. *J Nutr* 2009; 139:1022-30.
32. Zlotkin SH, Tondeur M. Successful approaches: Sprinkles. In: Kraemer K, Zimmermann MB. *Nutritional Anemia. Sight and Life Press*; 2007.
33. Sprinkles Global Health Initiative. About Sprinkles. 2009 – [citado em 04 jul 2010]. Disponível em: <http://www.sghi.org>
34. Dewey KG, Yang Z, Boy E. Systematic review and meta-analysis of home fortification of complementary foods. *Matern Child Nutr* 2009; 5: 283-321.
35. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Primeiros resultados do Censo 2010 / População por domicílio. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/tabelas_pdf/total_populacao_pernambuco.pdf.

36. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD). Atlas do Desenvolvimento Humano. Índice de Desenvolvimento Humano – Municipal, 1991 a 2000. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: <<http://www.pnud.org.br/atlas/ranking/IDH-M%2091%2000%20Ranking%20de%20crescente%20.htm>>.
37. Hulley SB, Cummings SR, Browner, WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. Designing Clinical Research. 2ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001
38. The Micronutrient Initiative. SickKids The Hospital for Sick children. Joint Statement by the Micronutrient Initiative, International Nutrition Foundation and the Sprinkles Global Health Initiative at Sick Kids. Home fortification with multiple micronutrients: effectively preventing iron deficiency anaemia in infants and young children. [cited 2011 Jul 25]. Available from: http://sghi.org/resource_centre/MISGHIIDPAS.pdf
39. Lohman TG, Roche AF, MARTOREL R. Anthropometric standardization reference manual. Illinois: Human Kinetics Books, 1988.
40. World Health Organization. WHO Anthro (version 3.2.2, January 2011) and macros. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: <http://www.who.int/childgrowth/software/es/index.html>.
41. World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: WHO; 1996
42. Cook JD, Flowers CH, Skikne BS. The quantitative assessment of body iron. J Hematol 2003;101:3359-64.
43. Garcia MT, Granado FS, Cardoso MC. Alimentação complementar e estado nutricional de crianças menores de dois anos atendidas no Programa Saúde da Família em Acrelândia, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira. Cad Saúde Pública 2011; 27:305-16.
44. Wharf SG, Fox TE, Fairweather-Tait SJ, Cook JD. Factors affecting iron stores in infants 4-18 months of age. Eur J Clin Nutr 1997; 51:504-9.
45. Drewett RF, Woolridge MW, Jackson DA, Imong SM, Mangklabruks A, Wongsawasdi L, et al. Relationships between nursing patterns, supplementary food intake and breast-milk intake in a rural Thai population. Early Hum Dev 1989; 20:13-23.
46. United States Department of Agriculture. Food and nutrient database for dietary studies, 3.0. Beltsville: USDA/ Agricultural Research Service, Food Surveys Research Group, 2008.

47. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Fortificação de farinhas. [citado em 15 jul 2011]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/farinha.htm>.
48. World Health Organization. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2nd ed. Geneva: WHO; 2004.
49. Praça NS, Merighi MAB. Pesquisa qualitativa em enfermagem. In: _____. Abordagens teórico-metodológicas qualitativas: a vivência da mulher no período reprodutivo. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003:1-3.
50. Krueger RA. Focus group: a practical guide for applied research. Newbury Park, Sage Publications, 1988.
51. Morgan DL. Focus groups as qualitative research. 2ª ed. California: SAGE, 1997.
52. Deslandes SF, Gomes R, Minayo MCS, (Org.) Pesquisa social: teoria, método e criatividade. 27ª ed. Petrópolis: Vozes, 2008.
53. Bardin L. Análise de conteúdo. 70ªed. Lisboa: Editora 70; 2009.
54. Minayo MCS, Deslandes SF, Gomes R. Pesquisa Social: teoria, método e criatividade. 27ª ed. Petrópolis: Vozes, 2008.