



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

FERNANDA ORRICO FARIAS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NOS NÍVEIS DE
HEMOGLOBINA EM CRIANÇAS INSTITUCIONALIZADAS, EM
SALVADOR – BAHIA**

**SALVADOR
2013**

FERNANDA ORRICO FARIAS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NOS NÍVEIS DE
HEMOGLOBINA EM CRIANÇAS INSTITUCIONALIZADAS, EM
SALVADOR – BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, da Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Linha de Pesquisa:

Bases Experimentais e Clínicas da Nutrição

Orientadora:

Profa. Dra. Sandra Santos Valois

**SALVADOR
2013**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de
Saúde, SIBI - UFBA.

F224 Farias, Fernanda Orrico

Efeito da suplementação de zinco nos níveis de hemoglobina em crianças institucionalizadas em Salvador – Bahia. / Fernanda Orrico Farias. – Salvador, 2013.

91 f.

Orientadora: Profª Drª Sandra Santos Valois.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, 2013.

1. Anemia. 2. Ferro. 3. Zinco. 4. Crianças. I. Valois, Sandra Santos. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 616.15

TERMO DE APROVAÇÃO

FERNANDA ORRICO FARIAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NOS NÍVEIS DE HEMOGLOBINA EM CRIANÇAS INSTITUCIONALIZADAS, EM SALVADOR – BAHIA

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Sandra Santos Valois

Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Professora da Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Mônica Leila Portela de Santana

Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Professora da Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Ney Cristian Amaral Boa Sorte

Doutor em Saúde Coletiva pela Universidade Federal da Bahia
Professor da Universidade Estadual da Bahia

Prof. Dr. Hugo da Costa Ribeiro Júnior

Doutor em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Professor da Universidade Federal da Bahia

Salvador – Bahia, 04 de abril de 2013

A minha mãe e minha irmã por tudo que fizeram e ainda fazem todos os dias para o meu crescimento pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que tem me proporcionado e por estar sempre ao meu lado nos momentos que mais precisei me dando força, sabedoria e discernimento.

A minha mãe, por ser meu exemplo de vida. Por muitas vezes abrir mão dos seus sonhos em busca dos meus e por sempre estar presente ao meu lado.

A minha segunda mãe, minha irmã, por sempre me apoiar e nunca medir esforços para fazer o melhor pra mim. E a minha dinda, Maria Mariana, que me prestigiou com momentos de alegria nessa etapa final. Ao meu cunhado, pelos valiosos conselhos.

A todos os meus familiares, pelo carinho, presença e apoio, por entenderem a minha ausência, quando necessário. Em especial à Michelle pelos momentos de lazer, descontração e incentivo.

À Profa. Sandra Valois, minha querida orientadora, pela confiança a mim depositada, por ter me incentivado a seguir este caminho e acreditado na minha capacidade profissional e científica. Sou eternamente grata a tudo que tenho conseguido na minha trajetória.

A toda equipe da Unidade Metabólica, em especial minhas colegas Nutricionistas (Ana Paula Aguiar, Carla Danusa, Carolina Melo, Danile Sampaio, Efigênia Leite, Mariana Costa e Mariana Pontes), por terem compreendido e consentido com a minha ausência durante toda trajetória da pós-graduação e pelas palavras de conforto nos momentos mais difíceis. E à Ivone, Mary Anne e Rosália por sempre estarem disponíveis para me ajudar.

A toda equipe que participou direta e indiretamente da coleta de dados, tornando viável a execução do projeto, em especial a Danile Sampaio.

A todas as Instituições que participaram de forma direta ou indireta, apoiando e acreditando neste trabalho:

Mansão do Caminho – em especial a creche A Manjedoura

Hospital Universitário Professor Edgard Santos – em particular o Centro de Pesquisas Fima Lifshitz

Universidade de Emory – Canadá

Universidade Federal da Bahia – em particular a Faculdade de Farmácia

Aos professores do Programa de Pós- Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, especialmente à Sandra Chaves, Ligia Amparo e Luciara, pelos ensinamentos que levarei por toda vida acadêmica.

Aos colegas da turma 2011 do curso de Pós Graduação, especialmente à Tamara, Fernanda, Matheus, Lúcia, Camilla e Gabriela, pelas valiosas lições, amizade e apoio em todos os momentos.

A todos os funcionários da Escola de Nutrição, em especial ao secretário do PPGANS, Sr. José Carlos, pela atenção, carinho, amizade, disposição, colaboração e rapidez no atendimento das solicitações.

A Dr. Maurício Cardeal, pela sua generosidade e fundamental auxílio na análise estatística e interpretação dos resultados.

As minhas amigas, Tamara e Lia, por nunca se afastarem de mim em toda essa trajetória.

Aos meus amigos, Mari Costa e Roberto, por estarem sempre disponíveis para ouvir os meus desabafos e me oferecerem ajuda, conselhos e darem puxões de orelha nos momentos mais imprescindíveis dessa trajetória. Adoro vocês!!!

A todos que, direta ou indiretamente, me incentivaram, me auxiliando nos momentos difíceis desta caminhada.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado”.

Roberto Shinyashiki

- INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

- Centro de Pesquisa Fima Lifshitz do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira (CPPHO), que compõe o Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (Com-HUPES), da cidade de Salvador, Bahia.
- Emory University, Atlanta, GA, United States of America.
- Creche Filantrópica Amanjedora que faz parte da Mansão do Caminho, situada no bairro de Pau da Lima, na cidade de Salvador, Bahia.

- LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma de participantes da randomização até conclusão do estudo.

Figura 2: Foto de um prato após o consumo do lanche com *sprinkles* para ser pesado.

Figura 3: Foto de suco sendo pesado antes de ser servido para o controle do método de resto-ingestão.

Figura 4: Foto de alguns membros da equipe fazendo a pesagem das refeições antes de servir.

Figura 5: Foto dos pratos identificados.

Figura 6: Foto do sache utilizado no estudo.

Figura 7: Foto do conteúdo do sache sendo adicionado numa pequena porção da refeição.

Figura 8: Foto dos saches e formulários entregues para um final de semana.

Figura 9: Foto mais próxima de saches e formulários entregues para um aluno da creche para um final de semana ou falta programada.

Figura 10: Foto dos saches vazios recebidos do final de semana após conferência.

Figura 11: Gráfico de regressão para modelo bruto da hemoglobina.

- LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Recomendação de zinco e ferro para lactentes e crianças de acordo com as DRI's.

Tabela 2: Composição de dois tipos básicos de *sprinkles* utilizados para tratamento e prevenção da anemia ferropriva e deficiência de micronutrientes.

Tabela 3: Composição da suplementação de micronutrientes, com e sem zinco.

Tabela 4: Características admissionais dos grupos A (teste) e B (controle).

Tabela 5: Medianas e Intervalos interquartílicos dos *z-scores* dos indicadores antropométricos P/A, A/I e P/I dos grupos teste e controle antes e após a intervenção.

Tabela 6: Modelos completo ajustado e bruto para avaliação da associação entre as variáveis independentes e a hemoglobina final, através de análise de covariância.

Tabela 7: Presença ou não de anemia nos grupos teste e controle no início e ao final estudo.

Tabela 8: Presença ou não de déficit de zinco sérico nos grupos teste e controle no início e ao final do estudo.

- LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AI: Adequate Intake – Ingestão Adequada
- Ca: Cálcio
- Ca⁺²: Cálcio divalente
- CRIP: Cisteína
- Com-HUPES: Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos
- CONEP: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
- DCT – 1: Proteína transportadora de cátion bivalente
- DP: Desvio padrão
- DRI`s: Dietary Reference Intake
- EAR: Estimated Average Requirement – Estimativa do Requerimento Médio
- E/I: Estatura/Idade
- FAO: Food and Agriculture Organization
- Fe: Ferro
- Hb: Hemoglobina
- IC: Intervalo de confiança
- liq: Intervalo interquartilico
- IOM: Institute of Medicine
- IZinCG: Internacional Zinc Nutrition Consultive Group
- Mg: Magnésio
- Mg⁺²: Magnésio divalente
- MS: Ministério de Saúde
- MT: Metalotioneína
- P/E: Peso/Estatura

- P/I: Peso/Idade
- PNDS: Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde
- R²: Coeficiente de determinação da regressão
- RDA: Recommended Dietary Allowance – Ingestão Diária Recomendada
- SGHI: Sprinkles Global Health Initiative
- TCA: Ácido tricloroacético
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- UFBA: Universidade Federal da Bahia
- UL: Tolerable Upper Intake Leves - Ingestão Máxima Tolerável
- UNICEF: United Nations Children`s Fund
- VS: versus
- WHO: World Health Organization
- Zn: Zinco
- Zn⁺²: zinco divalente

- LISTA DE SÍMBOLOS

- cm: centímetro
- g: grama
- Kg: quilograma
- mg: miligrama
- mg/dia: miligrama por dia
- mg/dL: miligrama por decilitro
- mL: mililitro
- n: número parcial de indivíduos por grupo
- N: número total de indivíduos por grupo
- p: nível de significância
- rpm: rotação por minuto
- µg: micrograma
- µg/L: micrograma por litro
- µg RE: micrograma de retinol
- µL: microlitro
- %: porcentagem
- =: igual
- >: maior que
- <: menor que

- SUMÁRIO

	RESUMO	17
	ABSTRACT	18
1.0	INTRODUÇÃO	19
2.0	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1	Zinco	20
2.2	Absorção do zinco	21
2.3	Interação entre zinco e ferro	22
2.4	Prevalência da deficiência de zinco, causas e consequências	23
2.5	Biodisponibilidade do zinco	25
2.6	Parâmetros bioquímicos de avaliação do zinco	26
2.7	Epidemiologia da anemia ferropriva	27
2.8	Etiologia da anemia ferropriva	29
2.9	Atuação do zinco na prevenção de anemia	30
2.10	Recomendações diárias de ingestão	32
2.11	Suplementação com <i>sprinkles</i>	32
3.0	OBJETIVOS	34
3.1	Objetivo geral	34
3.2	Objetivos específicos	34
4.0	CAUSUÍSTICA E MÉTODOS	35
4.1	Desenho do estudo	35
4.2	Local do estudo	35
4.3	Características da população do estudo	35
4.4	Amostra	36
4.5	Critérios de Elegibilidade	36
4.5.1	Critérios de inclusão	36
4.5.2	Critérios de não inclusão	36
4.6	Avaliação Médica	36
4.7	Avaliação Nutricional	37
4.7.1	Avaliação Antropométrica	37
4.7.2	Avaliação Dietética	38
4.8	Randomização e Aleatorização	38
4.9	Intervenção	38
4.10	Avaliação laboratorial	39
4.11	Processamento e Análise de Dados	41
4.12	Aspectos éticos	42
5.0	RESULTADOS	43
6.0	DISCUSSÃO	45
7.0	CONCLUSÃO	47
8.0	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
9.0	PERSPECTIVAS DE ESTUDO	48
10.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
11.0	FIGURAS	62
	Figura 1: Fluxograma de participantes da randomização até conclusão do estudo.	62
	Figura 2: Foto de um prato após o consumo do lanche com <i>sprinkles</i> para ser pesado.	63

	Figura 3: Foto de suco sendo pesado antes de ser servido para o controle do método de resto-ingestão.	64
	Figura 4: Foto de alguns membros da equipe fazendo a pesagem das refeições antes de servir.	65
	Figura 5: Foto dos pratos identificados.	66
	Figura 6: Foto do sache utilizado no estudo.	67
	Figura 7: Foto do conteúdo do sache sendo adicionado numa pequena porção da refeição.	68
	Figura 8: Foto dos saches e formulários entregues para um final de semana.	69
	Figura 9: Foto mais próxima de saches e formulários entregues para um aluno da creche para um final de semana ou falta programada.	70
	Figura 10: Foto dos saches vazios recebidos do final de semana após conferência.	71
	Figura 11: Gráfico de regressão para modelo bruto da hemoglobina.	72
12.0	TABELAS	73
	Tabela 1: Recomendação de zinco e ferro para lactentes e crianças de acordo com as DRI's.	73
	Tabela 2: Composição de dois tipos básicos de <i>sprinkles</i> utilizados para tratamento e prevenção da anemia ferropriva e deficiência de micronutrientes.	74
	Tabela 3: Composição da suplementação de micronutrientes, com e sem zinco.	75
	Tabela 4: Características admissionais dos grupos A (teste) e B (controle).	76
	Tabela 5: Medianas e Intervalos interquartílicos dos z-scores dos indicadores antropométricos P/A, A/I e P/I dos grupos teste e controle antes e após a intervenção.	77
	Tabela 6: Modelos completo ajustado e bruto para avaliação da associação entre as variáveis independentes e a hemoglobina final, através de análise de covariância.	78
	Tabela 7: Presença ou não de anemia nos grupos teste e controle no início e ao final estudo.	79
	Tabela 8: Presença ou não de déficit de zinco sérico nos grupos teste e controle no início e ao final do estudo.	80
13.0	ANEXOS	
	Anexo A: Termo de consentimento livre e pré-esclarecido	
	Anexo B: Formulário: Exame Físico da admissão	
	Anexo C: Formulário de Acompanhamento	
	Anexo D: Formulário de Antropometria	
	Anexo E: Formulário de Ingestão creche	
	Anexo F: Formulário de Ingestão Sprinkles em casa	
	Anexo G: Parecer do Comitê de Ética	

- RESUMO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NOS NÍVEIS DE HEMOGLOBINA EM CRIANÇAS INSTITUCIONALIZADAS, EM SALVADOR-BAHIA.

Introdução

A relação entre a oferta de zinco combinada com o ferro na alimentação tem sido reestudada com bastante controversas. O que se sabe, e até parecia consolidado é que a absorção desses dois nutrientes combinados haveria competição pelo mesmo sítio de absorção. Alguns estudos demonstram a diminuição de níveis séricos de zinco nos pacientes que receberam suplementação de ferro. Por outro lado, pesquisadores têm encontrado melhora nos níveis séricos de hemoglobina em pacientes que receberam suplementação de zinco combinada com ferro.

Objetivo

Avaliar o efeito da suplementação de zinco nos níveis de hemoglobina em crianças com idade entre 06 a 48 meses.

Método

Ensaio clínico, cego, randomizado, realizado com 143 crianças institucionalizadas, saudáveis, de 06 a 48 meses. As mesmas foram aleatorizadas em dois grupos que receberam, diariamente, zinco juntamente com outros micronutrientes – grupo teste (*sprinkles*) ou apenas outros micronutrientes sem zinco – controle, sendo suplementadas por 90 dias. Coletas de sangue foram realizadas no início e no final do estudo para observar os níveis de hemoglobina e prevalência e incidência de anemia quando considerado um ponto de corte de 11,00 mg/dL para esse marcador bioquímico. Peso e estatura foram aferidos no início, no meio e no final do estudo e utilizados os indicadores peso por estatura e estatura por idade, expressos em escore z para diagnóstico nutricional. Aceitação do *sprinkles* foi avaliada a partir do consumo do mesmo na creche, através do método de resto-ingestão. Todas as refeições foram pesadas antes e após a oferta independente, mesmo não estando com o suplemento.

Resultados

Após o término da intervenção, a variação dos níveis médios de hemoglobina não foi diferente entre os grupos. Ao considerar 11,00 mg/dL como ponto de corte para anemia, foi observado que o grupo teste teve 48% de chance de não desenvolver anemia quando comparado com o grupo controle e o grupo controle teve 25% de chance de cura que o grupo teste. Ambos os grupos apresentaram melhora do zinco sérico e o grupo teste apresentou 82% de chance de não desenvolver deficiência de zinco em relação ao grupo controle. A suplementação com zinco não interferiu significativamente sobre as condições antropométricas das crianças.

Conclusão

A suplementação com zinco não promoveu interferência nos níveis séricos de hemoglobina, no entanto demonstrou-se ser um possível fator de proteção em relação ao surgimento de anemia e deficiência de zinco. Os resultados mostram a importância de manter o desenvolvimento de políticas públicas que combatam as carências nutricionais.

Palavras chave: suplementação de zinco, suplementação de ferro, anemia.

- ABSTRACT

EFFECT OF ZINC SUPPLEMENTATION IN HEMOGLOBIN LEVELS OF INSTITUTIONALIZED CHILDREN, SALVADOR-BAHIA.

Introduction

The relationship between the supply of zinc combined with the iron in the diet has been quite controversial. What is known, and even seemed consolidated is that the absorption of these two nutrients combined would compete for the same absorption site. Some studies show a decrease in serum zinc levels in patients receiving iron supplementation. Moreover, researchers have found an improvement in hemoglobin serum levels in patients receiving supplemental zinc combined with iron.

Objective

To evaluate the effect of zinc supplementation on hemoglobin levels in children aged 06-48 months.

Method

Clinical trial, blinded, randomized study of 143 institutionalized children healthy, 06 to 48 months. They were randomized into two groups receiving daily zinc with other micronutrients - group (sprinkles) or just other micronutrients without zinc - control, being supplemented for 90 days. Blood samples were taken at the beginning and at the end of the study to observe the behavior of hemoglobin and prevalence and incidence of anemia when considered a cut off 11.00 mg / dl for this biochemical marker. Weight and height were measured at the beginning, middle and the end of the study and use of weight for height and height for age, expressed as z score for nutritional diagnosis. Acceptance of sprinkles was evaluated from the consumption of the same in the nursery, through the method of ingestion-rest. All meals were weighed before and after the offer independent, although not with the supplement.

Results

After the intervention, the change in mean of hemoglobin levels did not differ between groups. When considering 11.00 mg / dl as the cut for anemia was observed that the test group had a 48% chance of not developing anemia than the control group and the control group had a 25% chance of curing the test group. Both groups showed improvement in serum zinc and the test group showed an 82% chance of not developing zinc deficiency in the control group. Zinc supplementation did not significantly interfere on anthropometric parameters.

Conclusion

Zinc supplementation did not cause interference in serum hemoglobin, however proved to be a probable protective factor against the development of anemia and zinc deficiency. The results show the importance of continuing the development of public policies to combat nutritional deficiencies.

Keywords: zinc supplementation, iron supplementation and anemia

1.0 INTRODUÇÃO

O zinco (Zn) é um elemento traço essencial que desempenha um papel importante na nutrição humana e na saúde. Tem envolvimento na atividade catalítica de inúmeras enzimas, além de atuar na síntese proteica, na função imunológica, na cicatrização de feridas, no crescimento estatural e na prevenção e formação de radicais livres (DEHGHANI *et al*, 2011). Sua deficiência já é considerada um problema de saúde pública em diversas regiões do mundo, o que pode estar relacionado não apenas com a quantidade consumida, mas com a biodisponibilidade desse micronutriente e sua associação com fatores antagonistas de absorção, tendo destaque para o fitato.

A deficiência de ferro (Fe) é considerada um dos maiores e mais grave problema de nutrição e saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, como Brasil (PINTO, 2008; FERRAZ, 2011). O Fe é um dos micronutrientes mais estudados e descritos na literatura. Desempenha importantes funções no metabolismo humano, tais como transporte e armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia em cadeia de transporte de elétrons, além de ser co-fator para algumas reações enzimáticas (BRASIL, 2005).

A literatura descreve os benefícios da suplementação de ferro isolada (PEREIRA *et al*, 2007; HERMOSO *et al*, 2011; LONG *et al*, 2012), como também a suplementação isolada de zinco (SENA & PEDROSA, 2005; FISCHER WALKER; EZZATI; BLACK, 2009), ambas atuando em diversos aspectos do organismo humano. No entanto, a relação entre a oferta de zinco e ferro combinada tem demonstrado controversas. O que parecia consolidado sobre a competição de sítios de absorção, hoje tem sido reestudado com objetivo de demonstrar melhora dos níveis de hemoglobina após suplementação com zinco e ferro.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de zinco nos níveis de hemoglobina em crianças institucionalizadas com idade entre 06 e 48 meses, contribuindo para ampliar o conhecimento das deficiências de micronutrientes.

2.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Zinco

Nos últimos 25 anos, a importância do Zn para o funcionamento adequado do metabolismo do ser humano ficou evidente. O que tem influenciado diretamente no aumento do número de pesquisas e publicações abrangendo este micronutriente nas mais diversas áreas do conhecimento biológico e científico (ANTUNES, 2010).

O Zn encontra-se no grupo IIB da Tabela Periódica, é considerado um micronutriente que representa cerca de 0,003% (1,4 a 3,0 gramas) do corpo humano, sendo o mais abundante depois do Fe (SILVA-SANTANA *et al*, 2002; SAPER & RASH, 2010). E apesar da sua pequena quantidade no organismo, sua presença é essencial em todos os ciclos da vida (PERSON; BOTTI; FÉRES, 2006).

É considerado um componente essencial para inúmeras funções bioquímicas e fisiológicas. Está envolvido na atividade de mais de 300 enzimas, é estabilizador de estruturas moleculares de constituintes citoplasmáticos, participa do metabolismo de proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos, é antioxidante, atua na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular prevenindo a peroxidação lipídica, entre outras funções. (MAFRA & COZZOLINO, 2004; YUYAMA *et al*, 2007). Além disso, melhora o sistema imunológico, atua fundamentalmente na espermatogênese, na atividade de alguns hormônios, na melhora do apetite e do paladar, no metabolismo da vitamina A e na visão noturna (WHO, 1996; RINK & GABRIEL, 2000; IZinCG, 2004).

A deficiência de Zn também pode interferir diretamente no crescimento e no desenvolvimento (SALGUEIRO *et al*, 2000; SINGH, 2004). A infância, assim como na gestação, é um período em que ocorre crescimento rápido e, portanto, de maior necessidade de zinco, como também de outros nutrientes. Dessa forma, se caracteriza como uma das fases de maior suscetibilidade a deficiências tanto de zinco e de outros micronutrientes (TAKETA, 2000; MARCOS, 2008).

A epidemiologia da deficiência de Zn nas populações ainda não foi adequadamente investigada, logo sua prevalência é desconhecida. Segundo o *Food and Agriculture Organization* (FAO), estima-se que a prevalência da deficiência de zinco possa estar em torno de 40% no mundo (MARET & SANDSTEAD, 2006). Sabe-se que ela está disseminada mundialmente, no entanto, o quadro de deficiência no Brasil ainda não é conhecido.

Apesar do cenário epidemiológico ainda ser obscuro, a deficiência de zinco é considerada um problema de saúde pública. Principalmente em determinadas regiões do mundo, sobretudo em países em desenvolvimento e em bolsões de pobreza de grandes cidades, populações rurais e comunidades sem acesso a alimentos fontes de zinco, por hábitos alimentares considerando a baixa biodisponibilidade nos alimentos vegetais ou razões econômicas que impossibilite o consumo de alimentos com conteúdo elevado desse micronutriente (BROWN; WUELER; PEERSON, 2001; CESAR; WADA; BORGES, 2005; YUYAMA *et al*, 2007; MARCOS, 2008).

2.2 Absorção do zinco

A absorção do Zn ocorre principalmente no intestino delgado, principalmente no jejuno e no íleo, sendo uma porção mínima absorvida no estômago e no intestino grosso (YUYAMA *et al*, 2007). Embora o jejuno seja, em geral, o segmento de maior absorção intestinal, por ele passa apenas o ingerido e o procedente da secreção endógena (VALLEE & FALCHUK, 1993). Pode acontecer por diferentes mecanismos, o que vai depender da quantidade do mineral no interior do lúmen intestinal (FREIRE, 2011).

A maior parte do Zn é absorvida pelo processo ativo com carreador quando este estiver em baixa concentração luminal. Este transporte envolve a proteína intestinal rica em cisteína (CRIP) e/ou a metalotioneína (MT), que é a principal enzima cuja função está na regulação do metabolismo corporal do zinco. (COZZOLINO & MAFRA, 2004). Depois que entra no enterócito, o zinco ligasse à CRIP, que transfere o zinco para a MT ou para o lado seroso, onde a

albumina faz o transporte no plasma. O Zn absorvido é transportado ao fígado pela albumina e em seguida para outros tecidos (FREIRE, 2011).

O transporte desse micronutriente também ocorre de forma não mediada, ou seja, difusão passiva pela borda em escova. Esta forma de absorção ocorre quando há uma alta concentração de zinco no lúmen, como no caso de suplementação. Diferente do processo ativo que deve acontecer na presença de uma alimentação equilibrada (YUYAMA *et al*, 2007). Acredita-se que exista uma família de transportadores de zinco que são reguladas pela quantidade desse micronutriente ingerida e seu fluxo (COUSINS & McMAHON, 2000).

Os processos de transporte do Zn são sensíveis à temperatura, ao tempo e ao pH. Outro ponto que pode interferir é o fato de que a absorção do zinco pode ser regulada por componentes da dieta que podem aumentar ou diminuir sua biodisponibilidade e por fatores fisiológicos que alteram a expressão gênica das MT e CRIP (HEMP & COUSINS, 1992 COUSINS & McMAHON, 2000).

2.3 Interação entre zinco e ferro

É cada vez mais comum existir a deficiência de um ou mais nutrientes simultaneamente no organismo humano, o que não poderia ser diferente para o Zn e Fe (ANTUNES, 2010). Dessa forma, a suplementação com esses dois nutrientes tem-se mostrado difícil, já que o mecanismo de interação entre a absorção de ferro e zinco não está completamente desvendado (ISFAOUN *et al*, 1997).

Autores têm sugerido que o Zn pode competir com o Fe para os mesmos receptores de células da mucosa intestinal no duodeno proximal, comprometendo desse modo a absorção de ambos os minerais. Essas interações estão relacionadas ao fato desses íons estarem nas primeiras séries de transição da tabela periódica de elementos e têm idênticas configurações da cadeia de elétrons (ISFAOUN *et al*, 1997; ROLFS & HEDIGER, 1999).

Mecanismos que justifiquem essa interação têm sido descritos na literatura. A primeira suposição é que com a ocorrência de uma deficiência combinada de ferro e zinco, ocorra diminuição da absorção de um micronutriente quando o outro estiver presente, pela possível competição entre os ligantes e transportadores (McMAHON & COUSINS, 1998).

A segunda suposição é que a suplementação combinada é menos eficaz que a suplementação isolada para melhorar a absorção e a retenção de ambos os micronutrientes, pelo fato da suplementação com Fe e Zn reduzir as reservas e o nível plasmático de ferro (LIND *et al*, 2003). Uma terceira hipótese está relacionada com a possibilidade de competição no transporte entre esses íons pela proteína transportadora cátion divalente 1 (DCT – 1) (SACHER; COHEN; NELSON, 2001).

Tratamentos combinados têm sido propostos como uma solução para essas carências nutricionais. No entanto, a suplementação com ferro e zinco tem demonstrado resultados contrários. Porém, é importante destacar que efeitos inibitórios entre os dois minerais só ocorrem em altas concentrações molares (Fe:Zn, 25:1) (SANDSTRON *et al*, 2000; PIZARRO *et al*, 2005).

2.4 Prevalência da deficiência de zinco, causas e consequências

Dentre as deficiências de micronutrientes, a de Zn está entre uma das mais importantes causas de morbidade principalmente em países em desenvolvimento e crianças com idade inferior a 05 anos que, juntamente com idosos e gestantes, é uma das faixas etárias mais atingidas (ANTUNES, 2010). O primeiro artigo para descrever deficiência de zinco em seres humanos foi realizado em homens egípcios cuja dieta era composta praticamente de cereais (PRASAD, 1969).

Segundo dados publicados pela WHO (*World Health Organization*) e o UNICEF (*United Nations Children's Fund*), em torno de 800.000 mil crianças morrem por ano em virtude da deficiência de zinco (WHO, 2003). Em um estudo mais recente desenvolvido com objetivo de estimar a prevalência de deficiência de zinco na América Latina, Ásia e África, mostrou que 4,4% do

total de mortes na infância estão associadas a essa deficiência, o que representa 453.207 crianças (FISCHER WALKER; EZZATI; BLACK, 2009).

Ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, realizado na Zâmbia, na África, observou déficit de zinco em 51% da amostra (GIBSON *et al*, 2011). No mesmo ano, Kapil e Jain realizaram um estudo transversal em 05 estados da Índia e observaram deficiência de zinco em 43,8% nas 1827 crianças com idade entre 06 e 60 meses.

No Brasil existem poucos trabalhos nacionais que investiguem a deficiência de zinco na população infantil, porém existem dados descritos por estudos pontuais para cada região estudada. Os estudos têm demonstrado prevalências bem variadas, o que pode estar associado às diferentes metodologias ou parâmetro de dosagem de zinco utilizado.

Pesquisadores em São Sebastião, no Distrito Federal, envolvendo 58 crianças, de ambos os sexos, de 12 a 59 meses, encontraram 100% de deficiência de zinco conforme os níveis séricos (SILVA *et al*, 2006). Em contrapartida, um estudo realizado no Rio de Janeiro, com 104 crianças, de idade entre 01 e 05 anos, apenas 7,5% da amostra tinha deficiência de zinco no plasma (BORGES *et al*, 2007).

Em decorrência da deficiência de zinco, algumas consequências podem surgir no metabolismo do ser humano a depender do grau de seu déficit. Entre os sinais, podem ser citados: atraso no crescimento, dermatite, dificuldade para cicatrização, anorexia, alteração no paladar, depleção do sistema imunológico, alteração na capacidade reprodutiva, anomalias esqueléticas, diarreia e alopecia, entre outras (PRASAD, 1988; ANTUNES, 2010).

Diversos fatores podem estar associados à deficiência de zinco, levando a inúmeras consequências. Dentre eles, podem ser citadas anormalidades no metabolismo, tendo como causas a ingestão dietética inadequada, presença de agentes na dieta que comprometem sua absorção, cirurgias do intestino, síndromes de má-absorção, doenças renais, doença crônica do fígado, abuso de álcool, nutrição parenteral total sem adição de zinco e problemas genéticos (SENA & PEDROSA, 2005).

2.5 Biodisponibilidade do zinco

A quantidade de um mineral que está disponível para a absorção está relacionada principalmente com a composição da dieta, da secreção gastrointestinal e interação luminal (MILLS, 1985). A absorção do zinco está correlacionada com sua concentração, e ocorre por meio de todo intestino delgado, principalmente no jejuno, além de pequenas quantidades serem absorvidas no estômago e no intestino grosso (VÁSQUEZ *et al*, 2000; CHIEN, 2006).

A biodisponibilidade do zinco tem sido amplamente estudada e diversos experimentos, tanto em seres humanos, quanto em animais, tem apresentado resultados controversos quanto ao tipo e o teor de nutriente que tem capacidade de interagir e reduzir a absorção deste micronutriente.

Inúmeros são os fatores dietéticos que podem interferir na biodisponibilidade do zinco (YUYAMA & COZZOLINO, 1994), tanto como promotores ou antagonistas potenciais da absorção (VÁSQUEZ, 2000). Dentre os principais antagonistas de absorção se destacam o fitato, o cálcio na presença de fitato e fibra e o ferro (O'DELL, 1985; SOLOMONS, 1982; TORRE; RODRIGUEZ; SAURA-CALIXTO, 1991; PEDROSA & COZZOLINO, 1993). Por outro lado, componentes presentes no vinho tinto, proteína de alto valor biológico, frutose e glicose podem facilitar a absorção (HOOLBROOK, 1969; McDONALD & MARGEN, 1980; SCHOLMERICH *et al*, 1987; TURNBULL; BLAKEBOROUGH; THOMPSON, 1990).

O fitato tem sido apontado como principal quelante do zinco. Representa uma classe complexa de componentes naturais que ocorrem principalmente em cereais e leguminosas e são derivados do ácido fítico ou ácido hexafosfórico mioinositol com habilidades de formar quelantes com íons divalentes, tais como zinco, cálcio e magnésio (Zn^{+2} , Ca^{+2} e Mg^{+2}) (BENEVITES *et al*, 2011).

Estudo com objetivo de avaliar as razões molares de fitato e zinco e fitato x cálcio e zinco de preparações para escolares entre 07 e 14 anos do município de Campinas. Os autores observaram que cerca de 50% das preparações apresentaram valores de risco à absorção de Zn da relação fitato

e zinco, e a frequência de 40% foi encontrada para a razão fitato x cálcio e zinco (DOMENE; PEREIRA; ARRIVILLAGA, 2008).

Como a mensuração da quantidade de fitato em um alimento ou dieta envolve diversos fatores, o *Internacional Zinc Nutrition Consultive Group* (IZiNCG), propõe a categorização das mesmas como tendo baixa e média biodisponibilidade de zinco, com base em certas características. Dietas baseadas em cereais não refinados ou legumes apresentam baixa biodisponibilidade (absorção de zinco entre 18 e 25%), enquanto que dietas mistas ou baseadas em verduras terão média biodisponibilidade, o que equivale a uma absorção do zinco entre 26 e 34% (IZiNCG, 2004; IZiNCG, 2007a) .

Por outro lado, a absorção e a biodisponibilidade do zinco também podem ser melhoradas a partir de algumas técnicas que promovem redução do fitato. Dessa forma, o IZiNCG com objetivo de prevenir a deficiência de zinco propõe as seguintes estratégias: redução do consumo de alimentos com elevado teor de fitato, técnicas como moagem, fermentação e germinação com objetivo de reduzir a quantidade de fitato do alimento e aumento do consumo de alimentos que melhoram a absorção do zinco (IZiNCG, 2007b).

2.6 Parâmetros bioquímicos de avaliação do zinco

Atualmente existem diversos marcadores bioquímicos para avaliar o estado nutricional relativo ao zinco, porém estudiosos afirmam que ainda não há um parâmetro confiável para esta investigação (COZZOLINO, 1997; FISBERG & BARROS, 2008). De acordo com Santos, Sardinha e Colli (2005), uma avaliação do estado nutricional do zinco, não deve ser feita apenas com dados bioquímicos e sim com a associação deste com dados antropométricos e dietéticos.

A investigação do zinco em estudos ainda deve considerar a inexistência de um parâmetro bioquímico sensível e específico para esta avaliação, o que pode estar associado ao fato desse micronutriente está presente em diferentes

tecidos e envolvido em diversas funções do metabolismo (ZEITUNE; RAMÓN; COUCEIRO de CADENA, 2001; FISBERG, 2008).

Dessa forma, o zinco vem sendo dosado tanto em tecido como também em fluidos, como por exemplo: cabelo, unha, pele, suor, saliva, soro, plasma e urina (FÁVARO & VANNUCCHI, 1990; YUYAMA *et al*, 2007). Tendo como alguns dos indicadores bioquímicos: o zinco sérico, o zinco eritrocitário, a concentração de zinco no cabelo, atividade da enzima linfócito 5`- nucleotidase e da enzima alcalino-fosfatase, dosagem da metalotioneína eritrocitária e plasmática (SALGUEIRO *et al*, 2000; YUYAMA *et al*, 2007). Sendo o zinco sérico o mais utilizado (HOTZ; PEERSON; BROWN, 2003).

Segundo Cordeiro (1994) e Whittaker (1998), uma série de fatores pode alterar a concentração de zinco no soro ou no plasma, entre elas a idade do indivíduo, o estado nutricional em relação ao Zn, a presença de um quadro infeccioso, como também a ocorrência de uma redistribuição desse mineral no organismo e não uma redução na sua concentração. Pode também reduzir na presença de estresse, de jejum prolongado, em situações especiais como a gravidez e alterações hormonais (ZEITUNE; RAMÓN; COUCEIRO de CADENA, 2001).

No entanto, apesar de todas as suas limitações, o zinco sérico é o parâmetro bioquímico mais utilizado nos estudos atualmente (SILVA *et al*, 2006; MARCOS, 2008; ANTUNES, 2010). Além disso, é mais recomendado para estudos em grupos do que em indivíduos, servindo aos propósitos deste estudo (FÁVARO & VANNUCCHI, 1990; HOTZ; PEERSON; BROWN, 2003; MARET & SANDSTEAD, 2006) e valores de referências disponíveis (FÁVARO & VANNUCCHI, 1990; SILVA *et al*, 2006).

2.7 Epidemiologia da Anemia Ferropriva

O Fe é um dos micronutrientes mais estudados e descritos na literatura. Está associado a diversas funções no organismo humano, como por exemplo, transporte e armazenamento de oxigênio, co-fator de algumas reações enzimáticas, reações de liberação de energia na cadeia de transporte de

elétrons e conversão de ribose a desorribose (COOK; BAYNES; SKIKNE, 1992).

A anemia nutricional é definida pela WHO como “*um estado em que a concentração de hemoglobina do sangue é anormalmente baixa em consequência da carência de um ou mais nutrientes essenciais ao organismo humano, tais como ferro, ácido fólico, vitamina B12 e vitamina A*” (WHO, 2004). Entretanto, a anemia causada por deficiência de ferro, denominada anemia ferropriva, é a responsável pela maior parte das anemias encontradas (JORDÃO; BERNARDI; BARROS FILHO, 2009; FERRAZ, 2011).

Um estudo conduzido pela WHO demonstrou que a anemia está presente em 24,8% da população mundial, sendo os pré-escolares a faixa etária mais afetada (47,4%) (WHO, 2008). Diversos estudos tem demonstrado que a anemia é um problema de saúde pública (ROCHA *et al*, 2008; VITOLLO, 2008; AZEREDO *et al*, 2010). Em 2004, estudo realizado na China observou prevalência de deficiência de ferro e de anemia igual a 32,5% e 7,8%, respectivamente, em crianças de 07 meses a 07 anos (ZHU & LIAO, 2004).

A Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS) avaliou, pela primeira vez em nível nacional, a prevalência de anemia em crianças e observou que 20,9% das crianças de zero a 59 meses apresentavam anemia, ou seja, aproximadamente 3 milhões de crianças (BRASIL, 2005). Dados na literatura brasileira têm demonstrado aumento na prevalência de anemia nos últimos anos, independente da região estudada, faixa etária ou nível socioeconômico (LIMA *et al*, 2004; BISCEGLI *et al*, 2008; PINHEIRO *et al*, 2008; JORDÃO; BERNARDI; BARROS FILHO, 2009).

Estudos tem confirmado a alta prevalência de anemia nas regiões brasileiras. Neves e colaboradores (2005) observaram que 66,6% das 365 crianças de 6 a 24 meses, tinham anemia, na cidade do Belém do Pará. Estudo de corte transversal, realizado na cidade de Salvador, com 553 crianças de zero a 12 meses, mais de 50% da amostra teve anemia (ASSIS *et al*, 2004). No ano de 2004, foi encontrada uma prevalência de 73,0% de anemia em crianças de zero a 12 meses em quatro cidades de Pernambuco (LIMA *et al*, 2004).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS), em 2005, publicou manual operacional para o Programa Nacional de Suplementação de Ferro, com

orientações em relação a recomendações nutricionais, enriquecimento de farinhas e suplementação medicamentosa com objetivo de auxiliar profissionais de saúde capacitados a reduzir a prevalência da anemia (BRASIL, 2005). Outra forma para diminuir os índices de crianças anêmicas é defendida pela *American Academy of Pediatrics* (COMMITTEE ON NUTRITION, 1976) e pela Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP, 2001), que é feita através da suplementação diária de sulfato ferroso, enquanto o MS defende a suplementação feita 01 vez por semana.

Segundo Queiroz e Torres (2000), a anemia ferropriva é um problema de saúde pública que, infelizmente, está longe de ser resolvido, apesar de todo o conhecimento acumulado sobre o assunto e, conseqüentemente, de serem muito bem conhecidas às medidas de intervenção viáveis para sua minimização.

Dessa forma, é evidente a necessidade de políticas públicas que envolvam não apenas o tratamento da anemia, mas atue na prevenção da mesma. Priorizando não apenas o tratamento dessa patologia, mas também educando, atuando e ensinando sobre todos os fatores que podem levar anemia.

2.8 Etiologia da anemia ferropriva

De um modo geral, a anemia instala-se em consequência de perdas sanguíneas e/ou por deficiência prolongada da ingestão de ferro alimentar, principalmente em períodos de maior demanda como na gestação, na infância e na adolescência (QUEIROZ & TORRES, 2000; BRASIL, 2005).

As causas de anemia ferropriva e/ou deficiência de ferro podem ter início no período intra-uterino, principalmente no último trimestre da gestação (QUEIROZ & TORRES, 2000). Após o nascimento até os 06 meses, o leite materno exclusivo atende as necessidades fisiológicas desse micronutriente, devido a alta biodisponibilidade do ferro no leite materno (OSÓRIO, 2002).

A partir dos 06 meses de idade, a amamentação exclusiva não consegue suprir as necessidades de ferro, sendo necessária a introdução da

alimentação complementar (TORRES; SATO; QUEIROZ, 1994). Logo, a introdução de uma alimentação complementar com alimentos com baixo teor de ferro, como também a permanência do consumo desses alimentos vai favorecer a ocorrência de anemia (VIEIRA *et al*, 2007, VITOLLO, 2008).

Dessa forma, pode-se concluir que, a prematuridade (pela falta de tempo) e o baixo peso ao nascer (pela pequena reserva), associados ao desmame precoce do aleitamento materno, uso do leite de vaca no primeiro ano de vida, introdução da alimentação complementar incorreta e o baixo consumo de alimentos fontes de ferro, contribuem para o desenvolvimento da anemia (VIEIRA *et al*, 2007; AZEREDO *et al*, 2010)

Deve-se ainda levar em conta as condições socioeconômicas desfavoráveis, que impõem condições mais vulneráveis à diarreia, infecções respiratórias e parasitoses intestinais podendo comprometer a ingestão, a absorção e a utilização biológica do ferro (OSÓRIO, 2002; VIEIRA *et al*, 2007; BORTOLONI & VITOLLO, 2010).

Além desses aspectos, devem ser considerados: grau de escolaridade da genitora, fraco vínculo na relação mãe/filho, condições de saneamento básico, acesso aos serviços de saúde e baixo nível social (TORRES; SATO; QUEIROZ, 1994; BORTOLONI & VITOLLO, 2010).

Portanto, para o tratamento da anemia ferropriva são necessárias adoções de medidas que foquem apenas o tratamento após o diagnóstico. É de extrema necessidade, a realização de uma abordagem global, que envolva políticas públicas com objetivo na prevenção dessa carência nutricional.

2.9 Atuação do zinco na prevenção de anemia

A deficiência de Fe e de Zn persiste como um problema de saúde pública tanto nos países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento. A carência combinada dos dois nutrientes é muito frequente na população de modo geral (ANTUNES, 2010). O que faz com que alguns autores defendam a hipótese que o tratamento com ambos pode interferir negativamente na absorção, pelo fato de competirem pelos mesmos sítios absorptivos (LIND *et al*,

2003; SHILS *et al*, 2003). Em contrapartida, outros estudiosos acreditam que a suplementação combinada, em doses não muito elevadas, pode não ter interferência na absorção de ferro e zinco (IYENGAR; PULLAKHANDAM; NAIR, 2010).

O uso isolado de Zn ou de Fe tem revelado respostas diferentes em comparação com o uso combinado. Ensaio clínico realizado na cidade de São Sebastião, no Distrito Federal, que teve como objetivo avaliar o impacto da suplementação de zinco nos parâmetros nutricionais em crianças menores de 05 anos, inscritas no programa governamental de distribuição de leite fortificado com ferro. Os autores observaram que a suplementação com zinco promoveu aumento significativo na variação dos níveis de hemoglobina, hematócrito, zinco e ferro sérico em comparação com o grupo que apenas recebeu o leite fortificado (SILVA *et al*, 2006).

Estudo realizado com 478 crianças na Indonésia, cujo objetivo foi avaliar o efeito da suplementação de ferro e zinco isolados e combinados durante 06 meses, os resultados demonstraram que a suplementação de ferro não afeta negativamente a concentração plasmática de zinco, e a suplementação de zinco não aumentou a prevalência de anemia. Dessa forma, os autores concluíram que uma combinação de ferro e zinco pode ser segura e eficaz para realização de uma suplementação (DIJKHUIZEN *et al*, 2001).

Jack e colaboradores (2012) realizaram um ensaio clínico, com 1350 crianças, na Camboja, tendo como objetivo avaliar o efeito da suplementação com uso de *sprinkles* (com 12,5 mg de ferro, 10 mg de gluconato de zinco e outros micronutrientes) associado à orientação nutricional *versus* orientação nutricional sozinha. Os autores observaram que o uso de *sprinkles* durante 06 meses reduziu os índices de anemia e deficiência de ferro e aumentou a concentração de zinco sérico.

Pelo fato de alguns estudos demonstrarem que a associação de zinco e ferro pode interferir nos níveis de zinco sérico e/ou hemoglobina. E por outro lado, alguns autores terem apontado que a suplementação combinada desses dois micronutrientes pode favorecer melhor resultado nesses parâmetros bioquímicos. A realização de mais estudos, com desenho metodológico mais

apropriado, que envolva suplementação combinada de zinco e de ferro ainda é necessário para que essas hipóteses possam ser consolidadas.

2.10 Recomendações diárias de ingestão

As necessidades nutricionais para população sadia variam conforme idade, gênero, peso, velocidade de crescimento e estado fisiológico (VITOLLO, 2008). As recomendações diárias de um oligoelemento são definidas como sendo a ingestão mínima do micronutriente que permite o metabolismo ideal (LONG; ROSADO; FAWZI, 2007).

No ano de 2000, foram publicadas as recomendações diárias de zinco e ferro as DRI`s (Dietary Reference Intake), proposta pela *Food and Nutrition Board / Institute of Medicine* (IOM) (tabela 1). As DRI`s incluem 04 conceitos de referências para consumo de nutrientes: EAR (*Estimated Average Requirement* – Estimativa do Requerimento Médio), RDA (*Recommended Dietary Allowance* – Ingestão Diária Recomendada), AI (*Adequate Intake* – Ingestão Adequada) e UL (*Tolerable Upper Intake Leves* – Ingestão Máxima Tolerável) (IOM, 2000).

2.11 Suplementação com *Sprinkles*

No ano de 1996, foi realizada uma parceria entre o *Sprinkles Global Health Initiative* (SGHI) com *Hospital for Sick Children* na cidade de Toronto no Canadá, com objetivo de desenvolver um novo método de “fortificação caseira” (*sprinkle*) com intuito de prevenir a anemia e a deficiência de outros micronutrientes em lactentes e crianças, de acordo com *Micronutriente Initiative, International Nutrition Foundation* e *Sprinkle Global Health Initiative*. A busca pela nova estratégia, segundo a UNICEF, foi realizada pelo fato das intervenções disponíveis não serem tão eficazes na prevenção de anemia (NESTEL & ALNWICK, 1996).

Os *sprinkles* são sachês contendo micronutrientes estáveis e biodisponíveis em forma de pó e oferecidos em dose única uma vez ao dia. As

vitaminas e os minerais são encapsulados por uma fina camada lipídica que previne a interação com os componentes do alimento e não altera significativamente o sabor, cor ou textura dos alimentos a que são adicionados. Os sachês são simples de serem utilizados pelos pais e/ou responsáveis, pelo fato do pó poder ser misturado tanto aos alimentos sólidos como também aos líquidos, o que aumenta a adesão ao suplemento (ADU-AFARWUAH *et al*, 2007).

De acordo com o SGHI, duas principais formulações de *sprinkles* foram desenvolvidas, a *Nutricional Anaemia Formulation* recomendada para o uso em Saúde Infantil e Programas de Prevenção de Anemia e a *Multi-Micronutrient Formulation* que é uma formulação múltipla de micronutrientes com 10 vitaminas e minerais adicionais (tabela 2)

Um estudo realizado na zona rural de Gana na África, com 63 crianças, de 12 a 24 meses, de ambos os sexos, concluiu que 10 mg de zinco (gluconato de zinco) reduziu significativamente a absorção de ferro, enquanto que uma dose de 5 mg não teve efeito (TONDEUR *et al*, 2004).

Uma pesquisa realizada no Centro de Pesquisa em Saúde, localizado em Kintampo, distrito de Gana, em crianças com idade entre 12 e 24 meses, com objetivo de avaliar a biodisponibilidade de zinco e de ferro, concluíram que a dosagem de zinco absorvida contribui substancialmente para suprir as necessidades deste micronutriente em crianças, além de não interferir na absorção do ferro (ZLOTKIN *et al*, 2006). A biodisponibilidade do ferro e do zinco tem sido estudada em alguns estudos, sendo concluído que quantidade oferecida não muito elevada não interferiu na absorção de ambos os micronutrientes.

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar o efeito da suplementação de zinco sobre os níveis de concentração de hemoglobina em crianças com idade entre 06 a 48 meses.

3.2 Objetivos específicos

- Acompanhar o efeito da suplementação de zinco sobre os parâmetros antropométricos de peso e altura;
- Avaliar o impacto da suplementação de zinco sobre o estado nutricional relativo ao zinco (zinco sérico);
- Observar a incidência e a prevalência de anemia dentro de cada grupo no decorrer do estudo;
- Comparar a redução de anemia dentro de cada grupo no decorrer do estudo.

4.0 CAUSUÍSTICA E MÉTODOS

Este estudo faz parte de uma investigação mais ampla intitulada “Suplementação de zinco e outros micronutrientes através de *sprinkles*: impacto na ocorrência da doença diarreica e infecções respiratórias em crianças institucionalizadas”.

4.1 Desenho do estudo

Ensaio clínico, aleatorizado, controlado e unicego.

4.2 Local do estudo

Foi escolhida uma creche filantrópica de acordo com a conveniência, situada em um bairro de classe socioeconômica baixa, da cidade de Salvador (Ba). O estabelecimento possui funcionários capacitados, instalações físicas e condições higiênico-sanitárias e alimentares adequadas. O local é composto por 06 berçários para as crianças de 04 a 36 meses e 02 salas para crianças de 36 a 48 meses.

4.3 Características da população do estudo

Participaram do estudo crianças de 06 a 48 meses de idade, de ambos os sexos, que permaneciam na creche por tempo integral (das 07 às 17 horas) durante os cinco dias da semana. Todas as crianças recebiam 04 refeições (lanche da manhã, almoço, lanche da tarde e jantar).

4.4 Amostra

Esse estudo faz parte de uma investigação mais ampla. No entanto, uma amostra foi recalculada para detectar uma melhora de 13,5% no perfil da concentração de hemoglobina, com poder de 19,5%.

4.5 Critérios de Elegibilidade

4.5.1 Critérios de inclusão

- Crianças saudáveis de 06 a 48 meses.
- Ambos os sexos.
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos pais ou responsáveis (Anexo A).
- Comprometimento dos pais em não oferecer nenhum tipo de suplemento vitamínico e/ou mineral durante o período do estudo, exceto o *sprinkles*.

4.5.2 Critérios de não inclusão

- Crianças com diagnóstico nutricional de desnutrição grave a qual apresentasse peso para estatura com z-score inferior a -3 (WHO, 2006).
- Pacientes com hemoglobina abaixo de 9,0 mg/dl (WHO, 2001)
- Histórico de doença subjacente que pudesse vir a interferir na avaliação.

4.6 Avaliação Médica

A equipe médica foi responsável por realizar exame físico, aferição de temperatura, ausculta e história clínica (Anexo B e C).

4.7 Avaliação Nutricional

4.7.1 Avaliação Antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada por nutricionistas ou estudantes de nutrição devidamente treinadas, na admissão, sétima semana e ao final da intervenção (após 03 meses) (Anexo D). Para aferição do peso foi utilizada a Balança Digital Pediátrica Filizola® para crianças com até 15 Kg com precisão de 10 gramas e para aquelas com peso maior que 15 kg foi utilizada Balança Welmy®, Modelo 110 com previsão de 100 gramas, ambas devidamente calibrada. As medidas foram feitas em duplicata pelo mesmo aferidor, e repetidas quando houve diferenças superiores para 10 ou 100 gramas para as menores e maiores de dois anos, respectivamente. Todas as crianças foram pesadas sem roupas.

Para aferição do comprimento foi utilizado o infantômetro *Decongex Pluy*®, com precisão de 0,1 cm, para crianças menores de 02 anos, posicionadas na posição horizontal, com a cabeça encostada na parte fixa do aparelho e com os joelhos devidamente esticados. As maiores de 02 anos foram medidas na posição vertical com os pés e joelhos unidos com auxílio do estadiômetro acoplado a Balança *Welmy*®, também com precisão de 0,1 cm. O mesmo medidor aferiu duas vezes, quando houve uma diferença maior que 0,1 cm entre as medidas, uma terceira aferição foi feita. Tanto as medidas de estatura, quanto a de peso, tiveram o valor final obtido a partir da média de duas aferições.

Para obter o diagnóstico antropométrico, foram utilizados os indicadores Peso/Estatura (P/E), Estatura/Idade (E/I) e Peso/Idade (P/I) com auxílio do software WHO Anthro® versão 1.0.4 e utilizando os seguintes pontos de corte para P/E e E/I (z-score de P/E: acima de 3, obesidade, de 2 a 3, sobrepeso, de 1 a 2, risco de sobrepeso, 1 a -2, eutrofia, de -2 a -3, desnutrição, abaixo de -3 desnutrição grave; z-score e E/I: 2 a -2, crescimento adequado, de -2 a -3, baixa estatura, abaixo de -3, baixa estatura grave (WHO, 2006).

4.7.2 Avaliação Dietética

Para quantificar o consumo do dia, foi feita a pesagem dos alimentos antes e após a ingestão de cada refeição (método de resto-ingestão) (figuras 2 e 3), utilizando uma balança Filizola® calibrada com precisão de 01 grama. Todos os registros foram feitos sob a supervisão de nutricionista e anotados em formulário específico (figura 4).

Cada criança tinha seu utensílio separado e identificado (figura 5), e o seu lugar no refeitório era fixo. Todas as refeições foram feitas sob a supervisão das monitoras de cada berçário e sala, assim como pela equipe do projeto.

Os cardápios da creche, as fichas de preparo, com as quantidades de cada ingrediente e o porcionamento dos alimentos servidos, por berçário e sala, foram definidos pela nutricionista responsável. Antes do início do estudo, todas as refeições foram calculadas, utilizando tabelas de composição (PHILIPPI, 2002; TACO, 2006) e rótulos dos produtos, visando quantificar os macronutrientes e micronutrientes presentes em uma porção de 100 gramas, para então estimar o que era consumido pelas crianças diariamente.

4.8 Randomização e Aleatorização

Uma vez que a criança preencheu todos os critérios de elegibilidade, foi aleatorizada em dois grupos denominados por letras: grupo A (teste) e grupo B (controle). A aleatorização foi feita por berçários e salas utilizando sequência randômica gerada pelo Programa R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010.

4.9 Intervenção

Num período de 90 dias, diariamente, todas as crianças receberam a suplementação de micronutrientes com zinco (grupo teste) ou sem zinco (grupo controle) (tabela 3). O conteúdo de 01 sachê (figura 6) foi acrescentado no

lanche da tarde por questões de composição nutricional e de acordo com a rotina da creche, sendo esta a refeição mais viável e também a mais aceita pela população do estudo.

Diariamente, exceto nos fins de semana, os saches foram abertos, adicionados e misturados em uma pequena porção da refeição no momento de servir (figura 7). Os lanches foram acompanhados e monitorados por membros da equipe do estudo para garantir que não houvesse troca de pratos, perda da porção do alimento que contivesse o suplemento e para identificar quem não ingeriu. De acordo com ingestão da refeição, um formulário era preenchido para posteriormente avaliar a aceitação (Anexo E).

Nos fins de semana, feriados e ausências programadas, para garantir a continuidade da intervenção, os pais e/ou responsáveis recebiam saches para o consumo durante o período de ausência (figuras 8 e 9). Eles foram orientados a oferecer o suplemento 01 vez/dia, em refeição similar a servida na creche. Para o controle da aceitação foram entregues formulários (Anexo F) e também solicitou-se à devolução dos saches vazios (figura 10).

4.10 Avaliação laboratorial

As coletas de sangue foram realizadas na creche no início e no final do estudo, aproximadamente duas horas após o jejum. Duas alíquotas de sangue, uma de 05 mL e outra de 10 mL, foram retiradas para a determinação do zinco sérico e realização do hemograma, respectivamente. As amostras foram refrigeradas e levadas, imediatamente após a coleta, para o Laboratório de Hematologia do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (Com-HUPES) para a análise do hemograma, e para o Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) para dosagem do zinco sérico.

Para leitura do hemograma foi realizada a técnica de citometria de fluxo. Cinco mililitros de sangue venoso foram coletados em tubo marca BD com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético sódico) na concentração de 1,5mg/mL e 05 mL em tubo sem aditivo destinados a obtenção de soro. Após coleta, os

tubos foram transferidos para um homogeneizador modelo AP22 marca Phoenix onde permaneceram durante 03 minutos. Para realização das análises hematológicas, os valores hematológicos e os índices hematimétricos foram determinados por método automatizado no equipamento LH 750. A avaliação morfológica das hemácias foi realizada pela observação microscópica dos esfregaços sanguíneos corados pelo corante Wright. Foi considerada anemia quando a medida de hemoglobina (Hb) foi inferior a 11mg/dL (WHO, 2001)

A determinação da concentração do zinco sérico foi realizada por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica no modo chama. Após centrifugar o sangue por 10 minutos com rotação de 10.000 rpm numa centrífuga Sigma, transferiu-se 1,5 mL do soro para tubos Eppendorf previamente lavados com ácido nítrico a 10% e reservado.

Em seguida, foi feita a preparação da curva de calibração (cal zero, 60, 80, 100, 120 e 240 µg/L). Em balões volumétricos com volume total de 50 mL foram colocados solução intermediária de Zn (10.000 µg/L) nas seguintes quantidades 300, 400, 500, 600 e 1200 µL, respectivamente, 05 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 05% e completado com ácido nítrico a 0,2% até completar 50 mL.

Posteriormente, em tubos Eppendorf de 1,5 mL foram colocados 500 µL de TCA a 05% para desproteinização e 500 µL das amostras e dos controles de qualidade e agitados por 20 segundos no Vortex. Em seguida, os tubos foram transferidos para centrífuga Sigma e ficaram durante 05 minutos numa rotação de 14.000 rpm. Após centrifugação, 500 µL do sobrenadante foram diluídos em 02 mL de solução de ácido nítrico a 0,2% e homogeneizado manualmente. A curva de calibração foi preparada em meio de ácido nítrico a 0,2%.

Para realização da análise, primeiramente foram feitos os pontos da curva de calibração, partindo do de menor concentração para o de maior. Em sequência, realizadas as análises das amostras e do controle de qualidade. Foram utilizados dois controles de qualidade (*Controle 1: Assayed Chemistry Control – Human* e *Controle 2: Assayed Chemistry Control – Human*) Os resultados calculados a partir das absorbâncias obtidas foram expressos em µg/L, representando a média das concentrações das amostras preparadas em

duplicata. A deficiência de zinco foi considerada quando o valor foi inferior a 70 $\mu\text{g/dL}$ (FÁVARO & VANNUCCHI, 1990; SILVA *et al*, 2006).

4.11 Processamento e Análise de dados

As análises foram feitas considerando apenas os dados coletados na creche. Os dados foram tabulados em banco específico usando o software EpiData versão 3.3.1 e as análises realizadas por meio do pacote estatístico de domínio público R versão 2.8.1.

Para avaliar o comportamento das variáveis contínuas foram avaliados os coeficientes de assimetria, de curtose e o de variação. Quando os coeficientes de assimetria e o de curtose estavam próximos ou iguais a zero e o coeficiente de variação pequeno (menor que 50) foi utilizada a média como medida de tendência central devido à alta homogeneidade. Caso a variável não apresentasse estas características foi utilizada a mediana. Dessa forma, buscou-se utilizar o promédio que melhor representasse a amostra do estudo para cada variável.

Para caracterização da amostra foi realizada análise descritiva. Para as variáveis categóricas (sexo, idade e estado nutricional) foi utilizado o Teste Exato de *Fischer* e o Teste *T de Student* para as variáveis contínuas (média de peso e estatura). Para comparação dos *z-scores* dos indicadores antropométricos (variáveis contínuas) entre os grupos foram utilizadas as medianas e os intervalos interquartílicos e feito o Teste de *Mann-Whitney*.

Para as variáveis independentes ingestão de ferro, zinco e fibras consumidos foram utilizados a média juntamente com o desvio padrão. O Teste *T de Student* foi feito para comparar os valores entre grupos.

Para a variável dependente (concentração de hemoglobina) foi utilizada a média como medida de tendência central associada ao desvio padrão (DP) como medida de variabilidade e feito o Teste pareado de *Wilcoxon Signed Rank* para análise intra os grupos e o Teste *T de Student* para avaliar entre os grupos. Considerando como ponto de corte hemoglobina menor que 11,00 mg/dl para anemia, também foi calculada a prevalência e a razão de prevalência dentro dos grupos no início do estudo. Além do risco relativo,

identificou-se incidência de melhorar a hemoglobina ($>$ ou $=$ 11,00 mg/dl) e de piorar a hemoglobina ($<$ 11,00 mg/dl). Os mesmos testes foram utilizados para zinco sérico (variável contínua), considerando o ponto de corte para deficiência de zinco $<$ 70,00 mg/dl.

Foram feitos teste de correlação nas variáveis independentes com objetivo de avaliar colinearidade. Para identificação das variáveis modificadoras de efeito foram realizadas ANOVA e ANCOVA para variáveis independentes mistas. Para a variável resposta dependente (hemoglobina final) em relação ao grupo teste ou controle (variável nominal) foi calculada a ANOVA one-way. Em seguida, para análise de covariância, foi feita ANCOVA e se testou o pressuposto da heterogeneidade através de um modelo saturado com interações entre: grupo e hemoglobina inicial, grupo e quantidade de zinco da dieta consumida, grupo e quantidade de ferro da dieta consumida, grupo e quantidade de fibra da dieta consumida, zinco e ferro e zinco e fibra. A partir da avaliação do modelo saturado construiu se o modelo completo com as variáveis identificadas teoricamente como importantes.

Em seguidas realizou-se análise de regressão linear simples para o modelo final. A bondade de ajustamento do modelo de regressão foi avaliada através da normalidade dos erros, do teste de escore de variância não constante, do teste de Durbin-Watson para a independência dos erros e do teste de Bonferroni para valores extremos.

A suplementação de zinco (variável principal) foi avaliada por meio do percentual de dias com aceitação completa e o Teste *T de Student* para comparar entre os grupos. O nível de significância global foi mantido em 5%.

4.12 Aspectos Éticos

A presente investigação foi inscrita na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em 28/10/2008 e aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgar Santos de acordo com o protocolo 042/2008 em 06 de novembro de 2008 (Anexo G).

5.0 RESULTADOS

Dentre as 150 crianças matriculadas na creche, 07 não foram incluídas no estudo (03 por idade inferior a 06 meses e 04 por não estarem mais frequentando a creche), sendo randomizadas 143 delas, 52,45% pertenciam ao grupo teste e 47,55% ao grupo controle (figura 01). Todas completaram o estudo.

Os grupos foram semelhantes quanto às características no baseline – sexo, faixa etária, peso, estatura e estado antropométrico, este por sua vez, obtido por meio dos indicadores antropométricos P/E, P/I e E/I (tabelas 4 e 5).

As médias de hemoglobina (Hb) foram semelhantes entre os grupos na admissão e no final do estudo. Na admissão, a média de Hb (DP) = 11,81 mg/dL (0,83) vs 12,04 mg/dL (0,76) no grupo teste e controle, respectivamente (IC 95% [-0,02 – 0,51]; $p = 0,073$, e ao final do estudo Hb (DP) = 11,75 mg/dL (0,87) vs 11,80 mg/dL (0,97) no grupo teste e controle, respectivamente (IC 95% [-0,26 – 0,36]; $p = 0,7329$). Analisando os resultados intra grupos, no grupo controle, a diferença (hemoglobina final – hemoglobina inicial) das médias foi significativa ($p = 0,018$), diferente do grupo teste ($p = 0,2179$).

De acordo com a tabela 06 observa-se que o valor do coeficiente de inclinação (beta) da hemoglobina no início do estudo foi à única variável (estatisticamente significativa – $p = 0,001$) que foi capaz de explicar a variabilidade dos valores da hemoglobina no final do estudo. Como o ferro e a fibra, ambos da dieta, apresentaram alto valor de correlação, sugerindo colinearidade, a fibra foi retirada do modelo completo ajustado, utilizando dessa forma apenas o ferro.

Essa constatação também pode ser notada ao comparar-se a diferença de proporções entre o beta da hemoglobina inicial do modelo completo ajustado e o beta da hemoglobina do modelo bruto, apresentando uma diferença de apenas 8%, demonstrando com isso a pouca contribuição das demais variáveis independentes no modelo. Consequentemente pode-se afirmar que a cada 01mg/dL que se aumente hipoteticamente no valor da hemoglobina inicial, espera-se que em média se aumente 0,63mg/dL no valor da hemoglobina final. O mesmo pode ser observado através do gráfico de regressão para o modelo bruto da hemoglobina (figura 11). Portanto, existe

uma associação direta entre os valores iniciais e finais dos níveis de hemoglobina.

Considerando como 11,00 mg/dl o ponto de corte para hemoglobina para o diagnóstico de anemia (tabela 7). No início do estudo, a prevalência de anemia no grupo teste foi de 20,0% (n = 15), mais do que o dobro do valor de 8,8% (n = 6), encontrado no grupo controle. Apesar da diferença, a mesma não foi estatisticamente significativa (IC 95% [0,125 – 1,269]; p = 0,096). E com razão de prevalência igual a 2,27 [0,93 – 5,51]. Ao final do estudo, a ocorrência de anemia reduziu para 14,86% (n = 11) no grupo teste e aumentou para 14,7% (n = 10) no controle, porém não houve diferença entre os grupos (IC 95% [0,347 – 2,775]; p = 1,000). No final do estudo, a prevalência de anemia foi de 14,7% em ambos os grupos, teste (n = 11) e controle (n = 10).

Contudo, notou-se uma melhora de 53,3% (8/14) entre os casos de anemia no grupo teste e de 66,7% (4/6) no grupo controle. Logo, o risco de apresentar cura é 25% maior nas crianças que pertenceram ao grupo controle. Para as crianças que começaram o estudo com anemia e melhorou após a intervenção, o grupo teste apresentou risco de 0,533, enquanto o grupo controle de 0,667. Dessa forma, o risco relativo foi de 0,8 (IC 95% [0,38 – 1,67]) para o grupo teste, ou seja, quem pertenceu ao grupo teste teve 20% de chance de melhorar a anemia em relação ao grupo controle.

Em relação ao número de casos novos de anemia durante o estudo, o grupo teste apresentou incidência de 0,067, enquanto o grupo controle foi de 0,129. Dessa forma, o risco relativo foi de 0,52 (IC 95% [0,16 – 1,63]) para o grupo teste, ou seja, quem pertenceu ao grupo teste teve 48% de proteção para não desenvolver anemia em relação ao grupo controle.

Foi identificada prevalência elevada de deficiência de zinco sérico entre os participantes do estudo, de ambos os grupos, antes da intervenção. Os percentuais foram 64% (n = 48) e 64,7% (n = 44) no grupo teste e controle, respectivamente, não tendo diferença entre os grupos (IC 95% [0,429 – 1,955]; p = 1). Com razão de prevalência igual a 0,99 [0,77 – 1,26]. No final do estudo, houve um incremento dos níveis séricos deste mineral, reduzindo a prevalência de déficit para 16% (n = 12) no grupo teste e 25% (n = 17) no grupo controle, não tendo diferença entre os grupos (IC 95% [0,761 – 4,923; p = 0,2143).

Notou-se uma melhora de 77,1% (37/48) entre os casos de deficiência de zinco no grupo teste ($p = 0,000$), enquanto que no grupo esta redução de 72,7% (32/44) ($p = 0,000$). Em relação aos pacientes que começaram o estudo com zinco sérico normal e no final apresentaram déficit de zinco foi de 20,8% (12/17) no grupo controle e de 3,7% (1/27) no grupo teste. Dessa forma, ao calcular o risco relativo foi observado que a suplementação de zinco protegeu em 82% o grupo teste de desenvolver deficiência de zinco em relação ao grupo controle. Os dados estão representados na tabela 8.

A aceitação dos *sprinkles* foi avaliada a partir da observação do consumo na creche. A média do percentual de dias em que os grupos teste e controle consumiram todo conteúdo dos sachês foi de 95,72% (DP = 4,9) e 96,43% (DP = 6,2), respectivamente ($p = 0,452$).

O cálculo da ingestão, incluindo a adição dos *sprinkles*, mostra que não houve diferença no consumo médio de ferro [grupo teste: 20,65mg (DP = 2,74) vs grupo controle: 21,97mg (DP = 3,03); $p = 0,239$] e de fibras [grupo teste: 6,99g (DP = 1,28) vs grupo controle: 6,83g (DP = 1,37); $p = 0,564$]. Apenas o zinco, devido à suplementação em apenas um grupo foi diferente [grupo teste: 7,16mg (DP = 0,67) vs grupo controle: 2,30mg (DP = 0,67); $p < 0,0001$].

6.0 DISCUSSÃO

Ao longo de vários anos, pesquisadores envidam esforços objetivando reduzir as elevadas taxas de deficiência de micronutrientes nos indivíduos, principalmente de ferro.

No presente estudo, após suplementação de zinco, não foi observado aumento significativo na média da hemoglobina independente do grupo. Da mesma forma, estudo publicado por Antunes e colaboradores (2011), que avaliou juntamente a administração de zinco venoso antes e após a suplementação de zinco oral por 03 meses, em crianças de 07 a 09 anos, não observaram efeitos positivos em relação aos níveis de hemoglobina. Contrapondo com nossos dados, estudos têm observados melhora nos níveis

séricos de hemoglobina após suplementação com zinco ou zinco e ferro comparado com placebo (DIJKHUIZEN *et al*, 2001).

No entanto, ao considerar como 11,00 mg/dl o ponto de corte para diagnóstico de anemia, o grupo que recebeu zinco apresentou menor incidência durante o estudo. Contrastando com nossos dados, um ensaio clínico, duplo cego, placebo controlado, realizado no Nordeste da Tailândia, com crianças com idade entre 04 e 06 meses, com 06 meses de intervenção, a incidência de anemia foi maior no grupo que recebeu ferro (sulfato de ferro) e zinco (sulfato de zinco) do que no grupo que recebeu apenas ferro (WASANTWISUT *et al*, 2006).

Com a finalização do estudo, a prevalência de anemia teve uma redução no grupo teste, enquanto no grupo controle apresentou um aumento. Ensaio clínico publicado, por Jack e colaboradores (2012), observou redução de anemia de 20,6% no grupo intervenção em relação ao grupo controle ($p = 0,001$). Diferentemente, em ensaio clínico, unicego, a prevalência de anemia reduziu tanto no grupo controle como no grupo placebo, sendo que, no grupo suplementado, houve redução de 25,0% e no outro grupo de 6,60% ($p = 0,032$) (SILVA *et al*, 2006).

Uma possível explicação para o efeito do zinco sobre as condições hematológicas pode ser pela participação desse nutriente no metabolismo do ferro, atuando na regulação da função e expressão dos transportes de metais divalentes (YAMAJI *et al*, 2001).

A carência marginal de zinco tem sido atribuída à baixa ingestão de alimentos fontes de zinco, associado a sua baixa biodisponibilidade (YUYAMA & COZZOLINO, 1994). Nesse estudo, a deficiência de zinco esteve presente em mais de 60% de ambos os grupos e sua normalização foi observada em 75% das crianças no grupo teste e em 61% do controle. Esse resultado se assemelha ao resultado de outro estudo realizado com crianças suplementadas ou não com zinco, onde todas apresentaram melhora da deficiência de zinco (SILVA *et al*, 2006).

A suplementação de zinco não influenciou no crescimento das crianças em relação ao grupo controle nesse estudo. Concordando com outros estudos que também não observaram diferença entre os grupos controle e teste

(ALLEN, 1998; DIJKHUIZEN *et al*, 2001). Nesse aspecto, este estudo diverge de outro trabalho, uma meta-análise, com 36 estudos, em crianças menores de 05 anos, os autores observaram que a suplementação de zinco tem um efeito positivo sobre o crescimento linear, especialmente quando administrados sozinhos e que a dose de 10 mg/dia oferecida durante 24 semanas mostrou melhores resultados para o incremento da estatura (IMDAD & BHUTTA, 2011).

A falta de incremento do crescimento linear das crianças desse estudo pode estar associada a alguns fatores tais como: o tamanho da amostra, pelo curto tempo do estudo, pela dose utilizada para suplementação e/ou pela carência de outros micronutrientes que também são importantes para o crescimento infantil (HAMBIDGE, 2000; SILVA *et al*, 2006).

Demais estudos, que também avaliaram a aceitação dos *sprinkles*, mostraram resultados similares a este, sugerindo que os mesmos são uma boa opção no combate à deficiência de micronutrientes (ADU-AFARWUAH *et al*, 2007; ADU-AFARWUAH *et al*, 2008).

Reconhecemos como limitação que o tamanho da amostra aqui analisada não favoreceu a aquisição de resultados robustos do ponto de vista estatístico. Podendo também ser justificado pela dose de zinco utilizada para suplementação e pelo tempo da intervenção. Cabe salientar que a introdução de variáveis como parasitológico de fezes, ferro sérico, tempo de aleitamento materno exclusivo, uso de leite integral, idade de introdução da alimentação complementar, grau de escolaridade da mãe, prematuridade, entre outras, certamente corroboraria para fortalecer as análises feitas nesse estudo.

7.0 CONCLUSÃO

A partir dos dados apresentados nesse estudo conclui-se que a suplementação com zinco não apresentou interferência nos níveis de hemoglobina, assim como não influenciou no crescimento linear das crianças avaliadas. Contudo, a suplementação com zinco mostrou ser um possível fator de proteção para o desenvolvimento de anemia, como também para o surgimento de deficiência de zinco. Pode ser concluir também que o *sprinkles*

pode ser uma possível forma de suplementar micronutrientes com intuito de prevenir deficiências nutricionais.

8.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do rigor metodológico com o qual foi conduzida a pesquisa, algumas limitações identificadas podem ter contribuído para os resultados. Primeiramente o fato da amostra não ter sido calculada para o objetivo desse estudo, o que influenciou num menor poder. A dose de zinco utilizada pode ter sido insuficiente para promover algum efeito. Além disso, o tempo da intervenção pode não ter sido suficiente para identificar mudanças, como por exemplo, a estatura. A realização de exames laboratoriais, por exemplo, ferritina, ferro sérico, parasitológico de fezes, que poderia melhor embasar a discussão e comparação com outros estudos. E por último, a coleta de variáveis (tempo de aleitamento materno, prematuridade, uso de leite de vaca precocemente, entre outros) que poderiam está influenciando diretamente nos resultados encontrados.

9.0 PERSPECTIVAS DE ESTUDO

A partir dos resultados encontrados neste estudo, sugere-se a realização de um ensaio clínico, randomizados, duplo-cego, que leve em consideração uma amostra de maior poder, com um período de intervenção mais longo, dosagem de micronutrientes, com realização de exames específicos e coleta de variáveis que podem influenciar diretamente nos resultados.

10.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADU-AFARWUAH, S. et al. Randomized comparison of 3 types of micronutrient supplements for home fortification of complementary foods in Ghana: effects on growth and motor development. **Am J Clin Nutr**; v. 86, p. 412–420, 2007.
- ADU-AFARWUAH, S. et al. Home fortification of complementary foods with micronutrient supplements is well accepted and has positive effects on infant iron status in Ghana. **Am J Clin Nutr**, v. 87, p. 929-938, 2008.
- ALLEN, L.H. Zinc and micronutrient supplements for children. **Am. J. Clin. Nutr**, v. 68, p. 495-498, 1998.
- ANTUNES, M.F.R. Interação competitiva do zinco e ferro após administração oral e venosa de zinco em crianças eutróficas. **Tese (doutorado)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.
- ANTUNES, M.F.R et al. Competitive interaction of zinc and iron after venous and oral zinc administration in eutrophic children. **Trace elements and electrolytes**, p. 1-7, 2010.
- ASSIS, A.M.O et al. Childhood anemia prevalence and associated factors in Salvador, Bahia, Brazil. **Cad. Saúde Públ.** v. 20, n. 6, p. 1633-1641, 2004.
- AZEREDO, C.M et al. Efetividade superior do esquema diário de suplementação de ferro em lactentes. **Rev. Saúde Pública**. v. 44, n. 2, p. 230-239, 2010.
- BENEVIDES, C.M.J et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Rev Segurança Alimentar e Nutr.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

- BISCEGLI, T.S et al. Estado nutricional e carência de ferro em crianças frequentadoras de creche antes e 15 meses após intervenção nutricional. **Rev Paul Pediatr.**, v. 26, n. 2, p. 124 – 129, 2008.

- BORGES, C.V.D et al, Associação entre concentrações séricas de minerais, índices antropométricos e ocorrência de diarreia entre crianças de baixa renda da região metropolitana do Rio de Janeiro. **Revista de Nutrição de Campinas**, n. 20, v. 2, p. 159-169, 2007.

- BORTOLINI, G.S.; VITOLLO, M.R. Relação entre deficiência de ferro e anemia em crianças de até 04 anos de idade. **Jornal de Pediatria**, v. 86, n. 6, p. 488-492, 2010.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual Operacional do Programa Nacional de Suplementação de Ferro** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

- BROWN, K.H.; WUEHLER, S.E.; PEERSON, J.M.. The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. **Food Nutr Bull.**, v. 22, p. 113–125, 2001.

- CHIEN, X.X.; STONE, Z.S.; BAGSHI, M.; BAGSHI, D. Bioavailability, antioxidant and immune-enhancing properties of zinc methionine. **BioFactors**, v.27, p. 231-244, 2006.

- COMMITTEE ON NUTRITION: Iron supplementation for infants. **Pediatrics**, v. 58, n. 5, p. 765-768, 1976.

- 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.

- CORDEIRO, M.B.C. Adequação alimentar e avaliação do estado nutricional em relação ao zinco em grupos de idosos institucionalizados. **Dissertação (mestrado)**. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1994.

- COUSINS, R.J.; McMAHON, R.J. Integrative aspects of zinc transporters. **J Nutr**, v. 30, p. 1384S-1387S, 2000.

- COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v. 10, n. 2, p. 87-98, 1997.

- COZZOLINO, S.M.F.; MAFRA, D. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 10, n.2, p. 79-87, 2004.

- DEHGHANI, S.M et al. Prevalence of zinc deficiency in 3-18 years old children in Shiraz-Iran. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 13, n. 1, p. 4-8, 2011.

- DIJKHUIZEN, M.A et al. Effects of Iron and Zinc Supplementation in Indonesian Infants on Micronutrients Status and Growth. **J Nutr**; v. 131, p. 2860 – 2865, 2001.

- DOMENE, S.M.A.; PEREIRA, T.C.; ARRIVILLAGA, R.K. Estimativa da disponibilidade de zinco em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 161-167, 2008.

- FÁVARO, R.M.D.; VANNUCCHI, H. Níveis plasmáticos de zinco e antropometria de crianças da periferia de centro urbano no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 24, n. 1, p. 05-10, 1990.

- FERRAZ, S.T. Anemia ferropriva na infância: uma revisão para profissionais da atenção básica. **Rev. APS.**, v. 14, n. 1, p. 101-110, 2011.

- FISBERG, M.; BARROS, M.J.L. **O papel dos nutrientes no crescimento e desenvolvimento infantil**. São Paulo: Sarvier, p. 65-80, 2008.

- FISCHER WALKER, C.L.; EZZATI, M.; BLACK, R.E. Global and regional child mortality and burden of disease attributable to zinc deficiency [abstract]. **Eur J Clin Nutr.**, v. 63, n. 5, p. 591–597, 2009.

- GIBSON, R.S et al. A Micronutrient-Fortified Food Enhances Iron and Selenium Status of Zambian Infants but Has Limited Efficacy of Zinc. **The Journal of Nutrition**, v. 141, p. 935-943, 2011.

- HAMBIDGE, K.M. Human zinc deficiency. **J. Nutr**, v.1 (Suppl 1), p. 1344-1349, 2000.

- HEMP, J.M.; COUSINS, R.J. Cysteine-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationship as a conceptual model for zinc absorption in rats. **J Nutr**, v. 192, n. 1, p. 89-95, 1992.

- HERMOSO, M. et al. The Effect of Iron on Cognitive Development and Function in Infants, Children and Adolescents: A Systematic Review. **Ann Nutr Metab.**, v. 59, p. 154-165, 2011.

- HOTZ, C.; PEERSON, J.M.; BROWN, K.H. Suggested lower cutoffs of serum zinc concentrations for assessing zinc status: reanalysis of the second National Health and Nutrition Examination Survey Data (1976 – 1980). **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 78, p. 756-764, 2003.

- IMDAD, A.; BHUTTA, Z.A. Effect of preventive zinc supplementation on linear growth in children under 5 years of age in developing countries: a meta-analysis of studies for input to the lives saved tool. **BMC Public Health**, v. 11(Suppl 3): S3-S22, 2011.

- IOM. Institute of Medicine/Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc.** Washington, National Academy Press, 800p., 2000.

- International Zinc Nutrition Consultative Group (IZinCG). Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for Its Control. HOTZ, C.; BROWN, K.H. editors. **Food and Nutrition Bulletin**; 25 Suppl 2: 91-204, 2004.

- International Zinc Nutrition Consultative Group (IZinCG). Determining the risk of zinc deficiency: Assesment of dietary zinc intake. Technical Brief, 2007a; n.3. [acesso em 15 de dezembro de 2012]. Disponível em: www.izincg.org.

- International Zinc Nutrition Consultative Group (IZinCG). Preventing zinc deficiency through diet diversification and modification. Technical Brief, 2007b; n.5. [acesso em 15 de dezembro de 2012]. Disponível em: www.izincg.org.

- ISFAOUN, A et al. Relationships between iron and zinc metabolism: predictive value of digestive absorption on tissue storage. **J Trace Elem Med Biol**, v. 11, n. 1, p. 23-27, 1997.

- IYENGAR, V.; PULLAKHANDAM, R.; NAIR, K.M. Dietary Ligands as Determinants of Iron-Zinc Interactions at the Absorptive Enterocyte. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 8, p. 260-264, 2010.

- JACK, S. J. et al. Effect of Micronutrient Sprinkles on Reducing Anemia. **Arch Pediatr Adolesc Med.**, v. 166, n. 9, p. 842 – 850, 2012.

- 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.

- LIMA, A.C.V.M. et al. Fatores determinantes dos níveis de hemoglobina em crianças aos 12 meses de vida na Zona da Mata Meridional de Pernambuco. **Rev Bras Saúde Mater. Infant**, v. 4, n. 1, p. 35 – 43, 2004.

- LIND, T. et al. A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infants: interactions between iron and zinc. **Am J Clin Nutr.**, v. 77, p. 883-890, 2003.

- LONG, H. et al. Benefits of iron supplementation for low birth weight infants: a systematic review. **BMC Pediatrics**, v. 12, n. 99, p. 1-11, 2012.

- LONG, K.Z.; ROSADO, J.L.; FAWZI, W. The comparative impact of iron, the B-complex vitamins, vitamins C and E, and selenium on diarrheal pathogen outcomes relative to the impact produced by vitamin A and zinc. **Rev Nutr.**, v. 65, n. 5, p. 218-232, 2007.

- KAPIL, U.; JAIN, K. Magnitud of Zinc Deficiency amongst Under Five Children in India. **Indian J Pediatr** , 2011.

- KELSON, J.R.; SHAMBERGER, R.J. Methods compared for determination zinc and serum by flame atomic absorption spectrometry. **Clinical Chemistry**, v. 24, n. 2, 1978.

- MAFRA, D.; COZZOLINO, S. Importância do zinco na nutrição humana. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 79-87, jan./mar., 2004.

- MARCOS, E.N.F. Estado nutricional e níveis plasmáticos de zinco de crianças com deficiência mental de uma instituição de educação especial do Sul do Brasil. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

- MARET, W.; SANDSTEAD, H.H. Zinc requirements and risks and benefits of zinc supplementation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, n. 20, p. 3-18, 2006.

- McDONALD, J.T.; MARGEN, S. Wine versus ethanol in human nutrition. IV. Zinc balance. **Am. J. Clin. Nutr**, v. 33, p. 1096-1102, 1980.

- McMAHON, R.J.; COUSINS, R.J. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 95, p. 4841-4846, 1998.

- MILLS, C. F. Dietary interactions involving the trace elements. Annu. **Rev. Nutr.**, Palo Alto, v.5, p. 173-193, 1985.

- NESTEL, P.; ALNWICK, D. Iron/multi-micronutrient supplements for young children. Summary and conclusions of consultation held at UNICEF, Copenhagen. **International Life Sciences Institute** Washington, DC, august, p. 19-20, 1996.

- 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 Saúde Públ**, v. 21, n. 6, p. 1911 – 1918, 2005.

- O`DELL, B.L. Bioavailability of and interaction among trace elements. In: Chandra, R.K. **Traces elements in nutrition of children**. New York. Raven Press, p. 41-62, 1985.

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

- PEDROSA, L.F.C.; COZZOLINO, S.M.F. Efeito da suplementação com ferro na biodisponibilidade de zinco em uma dieta regional do nordeste do Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 27, n. 4, p. 266-270, 1993.

- PEREIRA, R.C. et al. Eficácia da suplementação de ferro associado ou não à vitamina A no controle da anemia em escolares. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 6, p. 1415-1421, 2007.
- PERSON, O.S.; BOTTI, A.S.; FÉRES, M.C.L.C. Repercussões clínicas da deficiência de zinco em humanos. **Arq Med ABC**, v. 31, n.1, p. 46-52, 2006.
- PHILIPPI, S.T. **Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para Decisão Nutricional**. 2 ed. São Paulo, 2002.
- PINHEIRO, F.G.M.B et al. Avaliação da anemia em crianças da cidade de Campina Grande, Paraíba, Brasil. **Rev Bras Hematol Hemoter.**, v. 30, n. 6, p. 457 – 462, 2008.
- PINTO, G.M. Deficiência de ferro: resistência ou suscetibilidade a infecções? **Rev. Médica de Minas Gerais**, v. 18, n. 3, p. 191-196, 2008.
- PIZARRO, F et al. Hierro y zinc em la dieta de la población de Santiago. **Rev Chil Nut**, v. 32, p. 32-37, 2005.
- PRASAD, A.S. A century of research on the metabolic of zinc. **Am. J. Clin. Nutr**, Bethesda, v. 22, p. 1215-1221, 1969.
- PRASAD, A.S. Zinc in growth and development and spectrum of human zinc deficiency [abstract]. **J Am Coll Nutr**, n. 7, v. 5, p. 377-384, 1988.
- QUEIROZ, S.S.; TORRES, M.A.A. Anemia ferropriva na infância. **Jornal de Pediatria**. v. 76, supl. 3, S298-S304, 2000.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Recuperado de <http://www.R-project.org>, 2010.

- RINK, L.; GABRIEL, P. Zinc and the immune system. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, p. 541-552, 2000.

- ROCHA, D.S et al. Estado nutricional e prevalência de anemia em crianças que frequentam creches em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Rev. Pau. Pediatr.** V. 26, n. 1, p. 06-13, 2008.

- ROLFS, A.; HEDIGER, M.A.. Metal íon transportation in mammals: Structure, function and pathological implications. **J Physiol**,v. 519, p. 1–12, 1999.

- SACHER, A.; COHEN, A.; NELSON, N. Properties of the mammalian and yeast metal-ion transporters DCT1 and Smf1p expressed in *Xenopus laevis* oocytes. **J Exp Biol**, v. 204, p. 1053-1061, 2001.

- SALGUEIRO, M.J et al. Zinc as an essential micronutrient: a review. **Nutrition Research**, v. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.

- SANDSTROM, B et al. A high oat-bran intake does not impair zinc absorption in humans when added to a low-fiber animal protein-based diet. **J Nutr**, v. 130, p. 594-590, 2000.

- SANTOS, H.G.; SARDINHA, F.A.A.; COLLI, C. Zinco eritrocitário (validação de um método de análise) e zinco dietético na avaliação do estado nutricional de mulheres adultas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 205-213, 2005.

- SAPER, R.B.; RASH, R.M.A. Zinc: an essential micronutrient. National Institutes of Health. **Am Fam Physician**, Boston, february, 2010.

- SBP. **Anemia carencial ferropriva**. Sociedade Brasileira de Pediatria – Departamento Científico de Nutrologia. Temas de Nutrição em pediatria. Rio de Janeiro. Edição especial, 2001.

- SCHOLMERICH, J. et al. Bioavailability of zinc from zinc histidine complexes. Studies on patients with liver cirrhosis and the influence of the time of application. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 45, p. 1487-1491, 1987.
- SENA, K.C.M.; PEDROSA, L.F.C. Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 251 – 259, 2005.
- SHILS, M.E et al. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9^a ed. Barueri (SP): Manole; 2003.
- SILVA, A.P et al. Effects of zinc supplementation on 1 – to 5 – year old children. **J Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 227-231, 2006.
- SILVA-SANTANA, S.C et al. Parâmetros de avaliação do estado nutricional de zinco: comparação entre os teores de zinco no cabelo e fosfatase alcalina sérica em pré-escolares do município de João Pessoa, Paraíba. **Revista Brasileira de Saúde Materno-infantil**, n. 3, v. 2, p. 275-282, 2002.
- SINGH, M. Role of micronutrients for physical growth and mental development. **Indian Journal of Pediatrics**, n. 1, v. 71, p. 59-62, 2004.
- SOLOMONS, N.W. Interacciones entre zinc y factores dietéticos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, n. 32, v. 1, p. 26-31, 1982.
- TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/NEPA-UNICAMP**. Versão II. 2 ed. Campinas – São Paulo. 2006. Disponível em: http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf.
- TAKEDA, A. Movement of zinc and its functional significance in the brain. **Brain Research Review**, n. 34, p. 137-148, 2000.

- TONDEUR, M.C et al. Determination of iron absorption from intrinsically labeled microencapsulated ferrous fumarate (sprinkles) in infants with different iron and hematologic status by using a dual-stable isotope method. **Am J Clin Nutr.**, v. 80, p. 1436-1444, 2004.

- TORRE, M.; RODRIGUEZ, R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytie acido on mineral availability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, n. 1, v. 1 p. 1-22, 1991.

- TORRES, M.A.A.; SATO, K.; QUEIROZ, S.S. Anemia em crianças menores de dois anos atendidas nas unidades básicas de saúde no estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 28, n. 1, p. 290-294, 1994.

- TURNBULL, A. J.; BLAKEBOROUGH, P.; THOMPSON, R.P.H. The effects of dietary ligants on zinc uptake at the porcine intestinal brush-border membrane. **Br. J. Nutr.**, v. 64, p. 733-741, 1990.

- UNICEF. United Nations Children's Fund (2003). **Delivering essential micronutrients: Iron**. [acesso em 15 de outubro de 2012]. Disponível em: www.unicef.org/nutrition/index_iron.html .

- VALLEE, B.L.; FALCHUK, K.H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiol Rev**, v. 73, n. 1, p. 79-118, 1993.

- VÁSQUEZ, A.L et al. Biodisponibilidade de zinco na dieta dos pré-escolares e efeito da adição da farinha de banana (*Musa paradisiaca*). **Acta Amazonica**, v. 30, n. 4, p. 641-651, 2000.

- VIEIRA, A.C.F et al. Avaliação do estado nutricional de ferro e anemia em crianças menores de 05 anos de creches públicas. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 4, p. 370-376, 2007.

- VITOLO, M.R. Anemia no Brasil: até quando? **Rev. Bra. Ginecol. Obstet**, v. 30, n. 8, p. 29-31, 2008.

- VITOLO, M.R. Recomendações Nutricionais para Crianças. In: _____. **Nutrição da gestação ao envelhecimento**. Rio de Janeiro. Ed. Rubio, p.191-199, 2008.

- WASANTWISUT, E et al. Iron and zinc supplementation improved iron and zinc status, but not physical growth, of apparently healthy, breast-fed infants in rural communities of Northeast Thailand. **The Journal of Nutrition**, v. 23, p. 2405-2411, 2006.

- WHITTAKER, P. Iron and zinc interactions in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 68, p. 442S-446S, 1998.

- WHO. [homepage na internet]. **Trace elements in human nutrition and health**. 1996. [acesso em 19 de outubro de 2012]. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241561734/en/index.html>

- WHO. [homepage na internet]. **Worldwide prevalence of anaemia 1993 – 2005**. Geneva: WHO Global Database on Anaemia. 2008. [acesso em 04 de novembro de 2012]. Disponível em: http://www.who.int/vmnis/publications/anaemia_prevalence/en/index.html.

- WHO. **Focusing on anaemia: towards an integrated approach for effective anaemia control**. Geneva: World Health Organization; 2004.

- WHO. **Micronutriente deficiency – an underlying cause of morbidity and mortality** [editorial]. Bulletin of the World Health Organization; v. 81, n. 2, 2003.

- WHO CHILD GROWTH STANDARDS. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO child growth standards based on length/height, weight and age. **Acta Paediatr.**, suppl. 450, p. 76-85, 2006.

- WHO. IRON DEFICIENCY ANAEMIA: ASSESSMENT, PREVENTION AND CONTROL. **A guide for programme managers**. Geneva, 114p., 2001.

- YAMAJI, K. M. et al. Zinc regulates the function and expression of the iron transporters DMT1 and IREG1 in human intestinal caco-2 cells. **FEBS Lett**, v. 507, p. 137-141, 2001.

- YUYAMA, L.K.O.; COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de zinco em dieta regional de Manaus. AM. Estudo em ratos. **Acta Amazonica**, v.24, n. 3/4, p. 265-274, 1994.

- YUYAMA, L.K.O. et al. Zinco. In: COZZOLINO, SMF. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. São Paulo, Ed. Manole, p. 549 – 574, 2007.

- ZEITUNE, M.I.; RAMÓN, A.N.; COUCEIRO de CADENA, M.E. Um nutriente esencial em la adolescencia – valoración del cinc. **Adolescencia Latinoamericana**, n. 2, p. 61-66, 2001.

- Zinc Investigators' Collaborative Group - (IZinCG). Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: Pooled analysis of randomized controlled trials. **J Paediatr**; v. 135, p. 689-697, 1999.

- ZHU, Y.P.; LIAO, Q.K. Prevalence of iron deficiency in children aged 7 months to 7 years in China. **Zhonghua Er Ke Za Zhi**, v. 42, n. 12, p. 886-891, 2004.

- ZLOTKIN, S.H. et al. Demonstrating Zinc and Iron Bioavailability from Intrinsically Labeled Microencapsulated Ferrous Fumarate and Zinc Gluconate Sprinkles in Young Children. **J Nutr**. v. 136, p. 920–925, 2006.

11.0 FIGURAS

Figura 1: Fluxograma de participantes da randomização até conclusão do estudo.

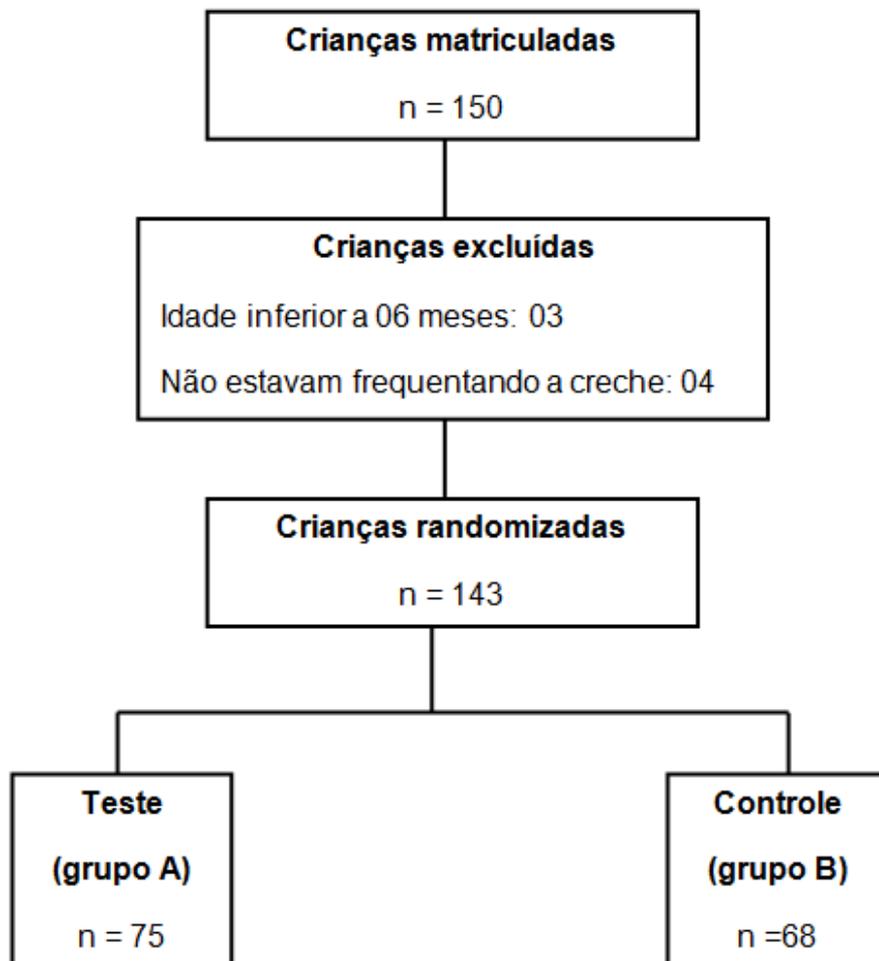


Figura 2: Foto de um prato após o consumo do lanche com *sprinkles* para ser pesado.



Figura 3: Foto de suco sendo pesado antes de ser servido para o controle do método de resto-ingestão.



Figura 4: Foto de alguns membros da equipe fazendo a pesagem das refeições antes de servir.



Figura 5: Foto dos pratos identificados.



Figura 6: Foto do sachê utilizado no estudo.



Figura 7: Foto do conteúdo do sachê sendo adicionado numa pequena porção da refeição.



Figura 8: Foto dos saches e formulários entregues para um final de semana.



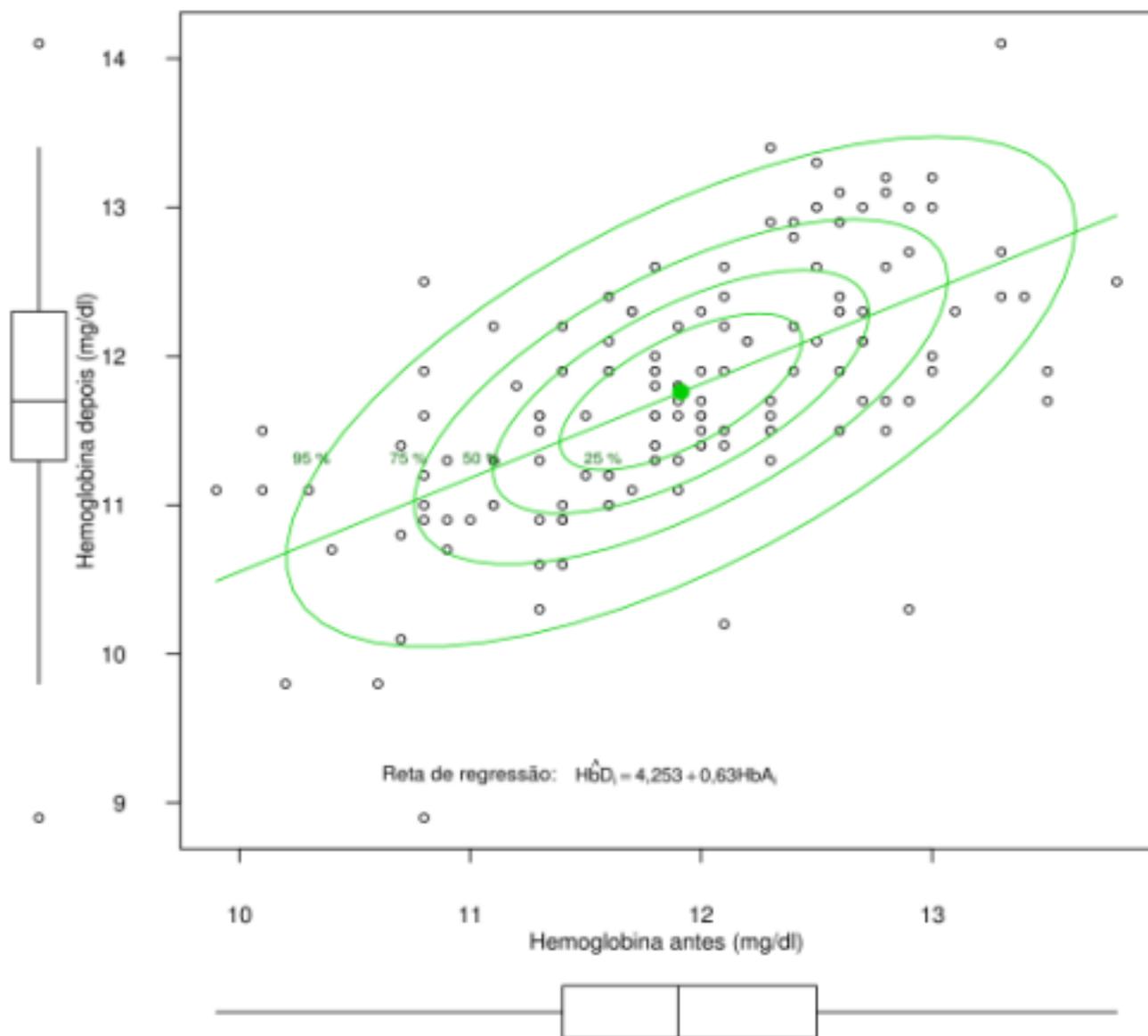
Figura 9: Foto mais próxima de sachês e formulários entregues para um aluno da creche para um final de semana ou falta programada.



Figura 10: Foto dos saches vazios recebidos do final de semana após conferência.



Figura 11: Gráfico de regressão para modelo bruto da hemoglobina.



12.0 TABELAS

Tabela 1: Recomendação de zinco e ferro para lactentes e crianças de acordo com as DRI's.

Faixa etária	RDA/AI ^a (mg/dia)	UL ^b (mg/dia)
• ZINCO •		
- Lactentes		
0 a 06 meses	02	04
07 a 12 meses	03	05
- Crianças		
01 a 03 anos	03	07
04 a 08 anos	05	12
• FERRO •		
- Lactentes		
0 a 06 meses	0,27	40
07 a 12 meses	11	40
- Crianças		
01 a 03 anos	07	40
04 a 08 anos	10	40

Nota: a) RDA (*Recommended Dietary Allowance*): Nível de Ingestão Dietética Recomendada / AI (*Adequate Intake*): Ingestão Adequada

b) UL (*Tolerable Upper Intake Levels*): Nível Superior de Ingestão Tolerável

Fontes: IOM, 2000.

Tabela 2: Composição de dois tipos básicos de *sprinkles* utilizados para tratamento e prevenção da anemia ferropriva e deficiência de micronutrientes.

Micronutrientes/ Sache sprinkle (1g)	Nutricional Anaemia Formulation	Multi-Micronutrient Formulation
Vitamina A	300 µg RE	400 µg RE
Vitamina C	30 mg	30 mg
Vitamina D	-	5 µg
Vitamina E	-	5 mg – α TE
Vitamina B1	-	0,5 mg
Vitamina B2	-	0,5 mg
Vitamina B6	-	0,5 mg
Vitamina B12	-	0,9 µg
Ácido Fólico	160 µg	150 µg
Niacina	-	6 mg
Ferro	12,5 mg	12,5 mg
Zinco	5 mg	4,1 mg
Cobre	-	0,56 mg
Iodo	-	90 µg

Fonte: Sprinkles Global Health Initiative.

Tabela 3: Composição da suplementação de micronutrientes, com e sem zinco.

Componentes	Quantidade por sachê (1g) teste (<i>sprinkle</i>)	Quantidade por sachê (1g) controle
Vitamina A (Acetato de vitamina A)	375 µg	375 µg
Vitamina B1 (Mononitrato de tiamina)	0.5 mg	0.5 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.5 mg	0.5 mg
Vitamina B6 (Piridoxina)	0.5 mg	0.5 mg
Vitamina B12 (Cianocobalamina)	0.9 µg	0.9 µg
Vitamina C (Ácido Ascórbico)	35 mg	35 mg
Vitamina D3 (Colecalciferol)	5.0 µg	5.0 µg
Vitamina E (Acetato de Vitamina E)	6.0 mg	6.0 mg
Niacina (Niacinamida)	6.0 mg	6.0 mg
Cobre (Sulfato de Cobre)	0.6 mg	0.6 mg
Iodo (Iodato de potássio)	50 µg	50 µg
Ferro (Fumarato ferroso)	12.5 mg	12.5 mg
Zinco (Gluconato de zinco)	5.0 mg	-
Maltodextrin (Carreador)	Q.S.*	Q.S.*
Silicon Dioxide (Carreador)	Q.S.*	Q.S.*

Nota: Os *Sprinkles* foram produzidos por *Hexagon Nutrition Pvt Ltd.* Índia, sob licença da SGHI, Canadá.

*Q.S.: quantidade suficiente.

Tabela 4: Características admissionais dos grupos A (teste) e B (controle).

Características	Grupo A	Grupo B	p-valor
	n (%)	n (%)	
N	75	68	
Sexo			0,1745*
Masculino	48 (64,0)	35 (51,5)	
Feminino	27 (36,0)	33 (48,5)	
Idade (meses)			0,8675*
06 – 24 meses	38 (50,7)	33 (48,5)	
24 – 48 meses	37 (49,3)	35 (51,5)	
Média de idade (meses)	25,20	26,11	0,7342 [†]
Peso (kg) (média)	11,90	12,10	0,6572*
Altura (cm) (média)	85,10	86,20	0,5361*
Estado Antropométrico (P/E)			0,5999*
Desnutrido	02 (2,7)	01 (1,5)	
Eutrófico	62 (82,7)	55 (80,9)	
Risco de Sobrepeso	08 (10,7)	11 (16,2)	
Sobrepeso	03 (4,0)	01 (1,5)	
Obesidade	00 (00)	00 (00)	
Estado Antropométrico (E/I)			0,1645*
Estatura adequada	53 (70,7)	55 (80,9)	
Baixa estatura	18 (24,0)	08 (11,8)	
Baixa estatura grave	04 (5,3)	05 (7,4)	

P/E: peso/estatura. E/I: estatura/idade

* Teste Exato de Fisher / [†] Teste Mann-Whitney / • Teste T Student

Tabela 5: Medianas e Intervalos interquartílicos dos z-scores dos indicadores antropométricos P/E, E/I e P/I dos grupos teste e controle antes e após a intervenção.

Indicador	Grupo A (Teste)		Grupo B (Controle)		p-valor*
	Md	liq	Md	liq	
Antes da Intervenção					
P/E	0,10	1,18	0,22	1,59	0,6334
E/I	-0,52	1,09	-0,33	1,22	0,1577
P/I	-0,15	1,25	0,06	1,71	0,4582
Após a Intervenção					
P/E	0,12	1,16	0,32	1,45	0,6334
E/I	-0,57	1,10	-0,38	1,33	0,1577
P/I	-0,10	1,14	0,08	1,39	0,4582

Md: mediana. liq: Intervalo interquartílico. P/E: peso/estatura. E/I: estatura/idade. P/I: peso/idade.

*Teste Mann-Whitney.

Tabela 6: Modelos completo ajustado e bruto para avaliação da associação entre as variáveis independentes e a hemoglobina final, através de análise de covariância.

Variáveis	Modelo Completo Ajustado*		Modelo Bruto**	
	Coef. (β)	Valor de p	Coef. (β)	Valor de p
(Intercepto)	2,4544	0,1300		
Hemoglobina inicial	0,6848	0,0001*	0,6300	<0,0001
Grupo	0,1748	0,7500		
Zn consumido da dieta	-0,0128	0,9100		
Percentual de aceitação de dias completos do <i>sprinkles</i>	0,0139	0,3400		
Fe consumido da dieta	-0,0102	0,7200		

Coef.: coeficiente. Zn: zinco. Ferro: ferro.

*Valor do R² ajustado: 31,6%

**Valor do R²: 38,9%; Média (-0,0015078) e variância (1,0328) dos erros; teste de homogeneidade da variância: p=0,7148; teste de Durbin-Watson para independência dos erros: p=0,4380; todos revelando bom ajuste do modelo bruto à regressão linear.

** Modelo bruto final após retirada de outliers (observações 144, 21 e 133), avaliados através do teste de Bonferroni para valores extremos.

Nota: diferença percentual entre os coeficientes da hemoglobina do modelo ajustado em relação ao bruto: $0,6300 \times 100 / 0,6848 = -8,0023\%$

Tabela 7: Presença ou não de anemia nos grupos teste e controle no início e ao final estudo.

GRUPO/TEMPO	n	< 11,00 mg/dl n (%)	> ou = 11,00 mg/dl n (%)	Valor de p
Antes da Intervenção				0,096*
Grupo Teste	75	15 (20,0)	60 (80,0)	
Grupo Controle	68	06 (08,8)	62 (91,2)	
Após a Intervenção				1,000*
Grupo Teste	75	11 (14,7)	64 (85,3)	
Grupo Controle	68	10 (14,7)	58 (85,3)	
Grupo teste: início versus final				0,885 [†]
Anemia	15	07 (46,7)	08 (53,3)	
Não Anemia	60	04 (06,7)	56 (93,3)	
Grupo controle: início versus final				0,133 [†]
Anemia	06	02 (33,3)	04 (66,7)	
Não anemia	62	08 (12,9)	54 (87,1)	

* Teste Exato de Fisher / [†] Teste pareado de Wilcoxon Signed Rank

Tabela 8: Presença ou não de déficit de zinco sérico nos grupos teste e controle no início e ao final do estudo.

GRUPO/TEMPO	n	< 70,00 mg/dl n (%)	> ou = 70,00 mg/dl n (%)	Valor de p
Antes da Intervenção				1,000*
Grupo Teste	75	48 (64,0)	27 (36,0)	
Grupo Controle	68	44 (64,7)	24 (35,3)	
Após a Intervenção				0,2143*
Grupo Teste	75	12 (16,0)	63 (84,0)	
Grupo Controle	68	17 (25,0)	51 (75,0)	
Grupo teste: início versus final				0,000†
Zinco baixo		11 (22,9)	37 (77,1)	
Zinco normal		01 (3,70)	26 (96,3)	
Grupo controle: início versus final				0,000†
Zinco baixo		12 (20,8)	32 (72,7)	
Zinco normal		05 (27,3)	19 (79,3)	

* Teste Exato de Fisher / † Teste pareado de Wilcoxon Signed Rank

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Pré-esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E PRÉ-ESCLARECIDO

TÍTULO: Suplementação de Zinco e Outros Micronutrientes Através do Uso de “Sprinkles”: Impacto na Ocorrência da Doença Diarreica e Infecções Respiratórias em Crianças Institucionalizadas

INVESTIGADOR: Dr. Hugo Ribeiro, Jr., Ph.D.
Professor Adjunto de Pediatria
Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia
Salvador, Bahia, Brasil

TELEFONE: (71) 3283-8346

INTRODUÇÃO

Convidamos seu filho(a) a participar deste estudo e é importante que você leia e entenda as seguintes explicações dos procedimentos propostos.

Este estudo está sendo coordenado pelo Centro de Pesquisa Fima Lifshitz da Universidade Federal da Bahia e conta com o apoio técnico da Emory University de Atlanta – USA. Você poderá fazer quaisquer perguntas, a qualquer momento, para assegurar-se de que sua decisão seja livre de qualquer influência para fazer a criança participar deste estudo. Cópia desta autorização lhe será fornecida.

PROPÓSITO DO ESTUDO

O propósito deste estudo é avaliar se com o uso diário de um suplemento de micronutrientes adicionado de zinco as crianças terão seu sistema de defesa mais fortalecido e ficarão mais protegidas de ter infecções respiratórias e diarreia.

Participarão aproximadamente 120 crianças no estudo neste. A participação da criança no estudo durará aproximadamente 3 meses. As informações sobre a participação da criança neste estudo serão coletadas enquanto estiver na creche. Se a criança faltar à creche, um funcionário da creche poderá visitá-la em casa para obter algumas informações sobre a falta da criança à creche e seu estado de saúde.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Para se qualificar para participar deste estudo, a criança deve ter entre 6 e 48 meses de idade (48 meses até e incluindo o 4º aniversário). O peso e altura atual da criança deverão estar dentro dos padrões normais para crianças da sua idade, a criança não poderá estar mamando exclusivamente no peito, deve estar livre de qualquer doença séria em atividade ou diarreia ou infecção

respiratória, e não ter histórico de doença subjacente ou má formação congênita que, na opinião do investigador, possa vir a interferir em sua, avaliação. Antes que qualquer procedimento relacionado ao estudo seja realizado, você deve ler e assinar este Consentimento Livre e Pré-Esclarecido. Estando a criança qualificada a participar deste estudo, será designada aleatoriamente a ela, por sorteio (como jogar uma moeda ao alto para tirar cara/coroa), para um dos 2 grupos:

. **grupo teste:** fará uso diário de suplemento de micronutrientes + zinco

. **grupo controle:** fará uso diário de suplemento de micronutriente sem adição de zinco

O pacotinho de nutrientes que, durante os próximos 3 meses, será adicionado 1x ao dia em uma das refeições do seu filho, contém apenas vitaminas e minerais e em doses recomendadas para crianças. Cada pacotinho contém: as vitaminas A, B1, B2, B6, B12, C, D, E, Niacina, Iodo, Cobre, Ferro e pode ou não conter Zinco.

A cada final de semana a criança receberá, para levar para casa, 2 pacotinhos para serem utilizados nos dois dias (um no sábado e o outro no domingo) do fim de semana. Você deverá jogar o conteúdo total do pacotinho na refeição combinada.

Dia de admissão

Os seguintes procedimentos serão realizados na creche no dia de admissão no estudo:

- Coleta de amostra de sangue
- Coleta de amostra de fezes
- Medição de peso e altura
- Exame físico
- Registro de diarreia ou outros problemas estomacais e intestinais
- Registro de qualquer medicamento que a criança estiver tomando ou usando

Todos os meses durante o período de estudo de 3 meses

- Os seguintes procedimentos serão realizados a cada mês:
- Medição de peso e altura
- Exame físico

Todos os dias da semana durante o período de 3 meses de estudo

- Os seguintes procedimentos serão realizados diariamente durante a semana em que a criança estiver na creche:
- Mistura de um pacotinho de vitaminas e minerais em uma das refeições do seu filho
- Registro de diarreia ou outro problema estomacal ou intestinal e

- qualquer infecção respiratória
- Registro de qualquer medicamento que a criança esteja usando
- Registro de todas as evacuações da criança durante o dia
- Registro do consumo alimentar da criança

Toda segunda-feira durante o período de estudo de 3 meses

O seguinte procedimento será realizado toda segunda-feira:

Você informará se a criança fez uso corretamente dos pacotinhos no sábado e no domingo e se a criança teve alguma doença durante o final de semana

RISCOS, DESCONFORTO E PRECAUÇÕES

Não existem riscos potenciais com a utilização dos pacotinhos, já que os mesmos contém apenas vitaminas e minerais. Entretanto, intolerância a uma ou mais vitaminas ou minerais, embora infreqüente, pode ocorrer.

Os riscos associados à coleta de sangue incluem dor, inflamação da veia, sangramento e, raramente, infecção do local de penetração da agulha.

BENEFÍCIOS

Não há garantias de que a criança irá se beneficiar com a participação neste estudo.

CUSTOS DE PARTICIPAÇÃO

Não há custos para você para a participação da criança neste estudo.

O estudo não substitui as consultas de rotina ao pediatra para os cuidados de saúde da criança.

CONFIDENCIALIDADE DOS REGISTROS

Os registros da participação da criança neste estudo serão mantidos confidenciais, salvo se a revelação seja requerida por lei. Se os resultados deste estudo vierem a ser publicados ou apresentados em reuniões científicas, a criança não será identificada.

CONTATO COM OS INVESTIGADORES

Se você tiver alguma pergunta sobre os direitos da criança como participante da pesquisa ou reclamações relativas a este estudo, você deve ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Prof. Edgar Santos telefone 3283-8346 durante o horário comercial.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA E DIREITO DE RETIRADA

A sua decisão em permitir a participação da criança neste estudo é voluntária. Você pode decidir permitir ou não que a criança participe, ou poderá retirar a criança do estudo, por qualquer motivo, sem penalidades ou perda de benefícios aos quais a criança, de outra forma, tenha direito, e sem afetar os futuros cuidados médicos da criança ou os cuidados na creche.

A participação da criança no estudo pode ser interrompida pelo médico do estudo ou pelo patrocinador do estudo sem o seu consentimento, por qualquer um dos seguintes motivos:

Se o estudo for cancelado, ouvido previamente o Sistema CEP/CONEP.

Se, na opinião do médico do estudo, haja alguma mudança na condição da criança que possa piorar se continuar participando do estudo, comunicado ao Sistema CEP/CONEP.

CONSENTIMENTO

Li e compreendi este formulário de consentimento. Tive a oportunidade de fazer perguntas e minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente. Este formulário está sendo assinado de plena vontade por mim, indicando minha concordância em que meu filho participe deste estudo, até que eu decida em contrário. Receberei uma cópia deste formulário de consentimento livre e esclarecido. Ao assinar este formulário de consentimento, não abro mão dos direitos legais do meu filho como participante da pesquisa.

Nome do participante (em letra de forma)

Nome da mãe ou responsável* (em letra de forma)

Data

Assinatura da mãe ou responsável*

Nome do pai ou responsável* (em letra de forma)

Assinatura do pai ou responsável*

Data

*Ao assinar este formulário de consentimento livre e esclarecido, declaro ter autoridade legal (custódia legal) para dar permissão para que esta criança participe deste estudo.

Providenciei cópias dos documentos de custódia para o médico do estudo ou designado, que comprovam que possuo a autoridade legal acima descrita (anexar).

Nome em letra de forma da pessoa que conduz a discussão do consentimento

Assinatura da pessoa que conduz a discussão do consentimento

Data

ANEXO B - Formulário: Exame físico da admissão

Suplementação de Zinco e Outros Micronutrientes Através do Uso de
"Sprinkles": Impacto na Ocorrência de Doença Diarreica e Infecções
Respiratórias em Crianças Institucionalizadas

Avaliação Clínica

Nome: _____ (A) (B)

Data Consulta: ___/___/___

Data Nascimento: ___/___/___ Idade: _____ anos Sexo: _____

Berçário/Sala: _____

Queixa Principal:

Exame Físico:

Peso: _____ g Estatura: _____ cm

Diag. Nutricional: _____

Temp.: _____ °C FR: _____ ipm FC: _____ bpm

Diarreia: (S) (N)

Se sim: Consistência fezes: _____
Frequência diária: _____
Duração: _____

IRA: (S) (N)

Diagnóstico: _____

ANEXO C – Formulário: Acompanhamento

Formulários Clínicos do Projeto Sprinkles na Creche/ 2009

Nome: _____ Nome na creche: _____ Berçário/Saia: _____ Grupo: _____

Data de randomização : _____ Mês: _____ Semana: _____ Período: _____

Nº de dias ausente da creche na semana: _____ Nº de Sprinkles consumidos na semana: : _____

	Criança está ou ficará ausente da creche hoje? Por quê ?	Teve dejeções líqds/semi-líqds hoje ?	Teve muco ou sangue nas fezes hoje ?	Teve sintomas de IVAS hoje? Quais ?	Outras Ocorrências ?	Tem diagnóstico firmado hoje?	Tomou sprinkles hoje ?
Segunda							
Terça							
Quarta							
Quinta							
Sexta							
Sábado							
Domingo							

ANEXO F – Formulário: Ingestão dos *Sprinkles* em casa

FICHA DE CONTROLE DE INGESTÃO DE SPRINKLES

Nome: _____ (A) (B)

Berçário/Sala: _____

Período de afastamento: _____ a _____ Qtd. de Sprinkles: _____

Dia da Semana: _____ Data: ____/____/____

1) Que horas o seu filho ou filha tomou a VITAMINA? Coloque do lado o horário que você ofereceu a VITAMINA e com que alimento você misturou.

() Café da Manhã:

() Lanche da Manhã:

()

Almoço: _____

() Lanche da

Tarde: _____

() Jantar/Café da Noite:

() Lanche da

Noite: _____

2) Seu filho ou filha tomou a vitamina toda: () SIM () NÃO

ANEXO G – Parecer do Comitê de Ética



Universidade Federal da Bahia
Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos
Rua Augusto Viana, s/n -Canela - CEP: 40.110-060 – Salvador - Bahia
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP
Tel.: (71) 3339-6394 FAX: (71) 3339-6228



FORMULÁRIO DE APROVAÇÃO PROT. CEP – 042/2008

O Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, avaliou o Projeto abaixo descrito.

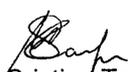
Projeto de Pesquisa: Suplementação de zinco e outros micronutrientes através do uso de Sprinkles: Impacto na ocorrência de doenças diarreicas e infecção respiratória em crianças institucionalizadas.

Pesquisadores Responsáveis: Hugo Ribeiro da Costa Júnior, Ângela Peixoto de Matos, Conrad R. Cole.

Data do Parecer: 06 de Novembro de 2008.

Parecer: Projeto Aprovado

Atenciosamente,


Dr.ª Maria Cristina Teixeira Cangussu
Coordenadora do CEP/Complexo HUPES