

Aspectos relacionados ao diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro em crianças

Aspects related to the laboratory diagnosis of child iron deficiency

Carlos Alberto Nogueira de Almeida¹; Flávio Diniz Capanema², Joel Alves Lamounier³, José Eduardo Dutra-de-Oliveira⁴

RESUMO

Objetivo: investigar parâmetros laboratoriais utilizados no diagnóstico do estado nutricional de ferro em uma população de crianças pré-escolares com elevada prevalência de anemia, visando avaliar o modelo explicativo vigente. **Métodos:** foram avaliadas 119 crianças de 12 a 72 meses nas duas únicas creches públicas da cidade de Pontal-SP, dosando-se hemoglobina, ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, ferritina sérica, receptor de transferrina e realizando-se teste de falcização. **Resultados:** 81 crianças foram diagnosticadas como anêmicas com prevalência de 68,1%, sendo que 61 delas (75,3%) apresentaram pelo menos um indicador de deficiência de ferro. No subgrupo de 20 crianças com anemia e sem sinais de deficiência de ferro, 19 apresentaram normocitose, tornando improvável a presença de doença talassêmica. Nesse grupo foram encontradas quatro crianças com possibilidade de processo inflamatório, sendo uma com ferritina acima de 120 ng/mL e três com CTLF inferior a 200 microg/dL. Além disso, uma única criança apresentou microcitose com valores de CTLF e ferritina dentro da normalidade. Nas demais 15 crianças o diagnóstico preciso da anemia não pôde ser determinado pelos exames realizados. **Conclusões:** os dados apresentados remetem para a necessidade de aprimoramento nas técnicas diagnósticas de anemia e deficiência de ferro em crianças. A utilização do modelo diagnóstico atual inclui significativo número de crianças anêmicas sem diagnóstico causal preciso, o que é altamente relevante do ponto de vista clínico e de saúde pública.

Palavras-chave: Anemia Ferropriva; Deficiência de Ferro; Crianças.

ABSTRACT

Objective: To investigate laboratorial parameters used to diagnose the iron nutritional status of a preschooler population with high prevalence of anemia with a view to assessing the current explicative model. **Methods:** A total of 119 children at age of 12 to 72 months were assessed in the two only public day care center in the City of Pontal, State of São Paulo. Assays targeted the concentration of hemoglobin, serum iron, serum ferritin, transferrin receptor, as well as sickling, and total iron binding capacity. **Results:** A number of 81 children was diagnosed as anemic at a prevalence rate of 68.1 %, and 61 of them (75.3 %) had at least one indicative of iron deficiency. In the subgroup of 20 children with anemia and no signs of iron deficiency, 19 had normocytosis, which meant improbable occurrence of thalassemia. In this group, four children were likely to go through inflammatory processes: one with ferritin concentration higher than 120 ng/mL, and three with iron-binding capacity lower than 200 microg/dL. One child had microcytosis with iron-binding capacity and ferritin concentration within normal limits. For the remaining 15 children, accurate diagnosis of anemia was not possible using the aforementioned tests. **Conclusions:** The results point to the need of improving techniques for the diagnosis of anemia and iron deficiency among children. The current diagnosis model includes a significant level of anemic

Recebido em: 13/11/2011
Aprovado em: 16/08/2012

Instituição:
CESNI – Centro de Estudos em Saúde e Nutrologia
Infantojuvenil da Universidade de Ribeirão Preto

Fontes financiadoras:
Universidade de Ribeirão Preto,
Universidade de São Paulo, FAPEMIG

Endereço para correspondência:
Carlos A N de Almeida
Av. Portugal, 1620, apto. 73,
CEP: 14020-380
Ribeirão Preto, SP, Brasil
E-mail: dr.nogueira@me.com

children with no accurate causal diagnosis. This is highly relevant from the clinical and public health perspective.

Key words: Iron-Deficiency Anemia; Iron Deficiency; Children.

INTRODUÇÃO

A anemia é uma condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue situa-se abaixo do normal. Embora as anemias possam ser ocasionadas por deficiência de vários nutrientes, como ferro, zinco, vitamina B12 e proteínas, a anemia ferropriva, caracterizada pela deficiência de ferro, constitui a forma mais comumente encontrada.¹ O nível de hemoglobina é o indicador mais utilizado no diagnóstico da anemia ferropriva, tendo sua importância reconhecida tanto na clínica como em inquéritos epidemiológicos.¹

O acelerado ritmo de crescimento da criança torna esse grupo particularmente vulnerável à ocorrência da anemia ferropriva, uma vez que as necessidades de ferro se encontram aumentadas. Suas consequências são mais susceptibilidade às infecções, mais mortalidade, atraso no crescimento e desenvolvimento e mais permeabilidade intestinal com tendência a mais sensibilização a alérgenos.² Estudos têm demonstrado que a anemia por deficiência de ferro relaciona-se a baixos escores em testes de desenvolvimento mental e em testes de atividade motora, podendo levar a sequelas irreversíveis, mesmo com tratamento adequado, sendo que, em crianças, as sequelas tendem a ser mais graves.³⁻⁵

A abordagem laboratorial da anemia leva em conta o caráter evolutivo do processo, que se inicia com a depleção das reservas de ferro, passa pela queda no ferro circulante e termina na redução do ferro funcional, ligado à hemoglobina, resultando em anemia clínica. Em geral, o diagnóstico é feito avaliando-se três aspectos da sua deficiência: baixa nas reservas de ferro, redução do ferro funcional (ligado a hemoglobina) e diminuição do ferro circulante.⁶ De acordo com esse modelo, a queda na hemoglobina deve ser o último estágio da depleção de ferro e, teoricamente, todas as crianças portadoras de anemia ferropriva deveriam ter sinais de deficiência de ferro. Entretanto, já há mais de 10 anos, Dewey⁷ questionava a consistência desse modelo para a faixa etária pediátrica, relatando uma série de trabalhos nos quais a queda nos valores de ferritina precedendo o surgimento da anemia não foi observada.

O presente estudo avaliou parâmetros laboratoriais utilizados no diagnóstico do estado nutricional de ferro em uma população de crianças pré-escolares com elevada prevalência de anemia, visando avaliar o modelo explicativo vigente.

METODOLOGIA

Foram avaliadas crianças de 12 a 72 meses, nas duas únicas creches públicas da cidade de Pontal, interior do estado de São Paulo, município de população em sua maioria carente, formada basicamente por trabalhadores rurais e onde têm sido desenvolvidos programas de controle da anemia ferropriva.⁸ As creches, com funcionamento em período integral, abrigam a maioria das crianças provenientes das famílias de baixa renda residentes em todos os bairros da cidade. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCRP 7367/98).

Para a inclusão, as crianças deveriam, obrigatoriamente, apresentar idade entre 12 meses completos e 72 meses incompletos e serem frequentadoras diárias em período integral, perfazendo um universo total de 142 crianças elegíveis. Foram excluídas 16 crianças que apresentaram uma ou mais das seguintes características: nove pelo uso de ferro medicamentoso no momento da coleta ou nos 30 dias anteriores, três por doença aguda nas últimas duas semanas, duas por doenças crônicas e duas por prematuridade ou baixo peso ao nascer. Das 126 crianças selecionadas, ocorreram sete perdas não recuperáveis devidas a um ou mais dos fatores: uma criança por preenchimento incompleto de protocolo, duas por extravio do material coletado e quatro por hemólise.

A coleta de dados foi realizada na própria creche, pela manhã, com a criança em jejum de 12 horas, por profissional de enfermagem da Prefeitura de Pontal. Foram coletados, por punção das veias da fossa cubital, 8 mL de sangue, sendo que 4 mL foram transferidos para tubo de ensaio de polietileno isento de ferro sem adição de anticoagulante e 3 mL para frasco contendo 50 microlitros de solução aquosa a 10% de etileno diamino tetracetato de potássio (EDTA-K). De cada uma foram obtidas dosagens sanguíneas: hemoglobina, ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, ferritina sérica, receptor de transferrina e teste de falcização.

Das amostras sem anticoagulante foi separado o soro, que foi dividido em duas alíquotas. A porção de 3 mL foi utilizada para as dosagens de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e ferritina; a porção de 2 mL foi usada para a dosagem do receptor de transferrina. As amostras com EDTA-K foram empregadas para a dosagem de hemoglobina.

Foram realizados os seguintes ensaios laboratoriais:

- concentração de hemoglobina e volume corpuscular médio realizados no contador automático de células *Coulter T-890*, série 6704465, New York, EUA;
- ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro: realizado pelo método *ferrozine*, com o modelo *Cobas Mira Plus* da ROCHE, série 33-7930, Suíça. O índice de saturação da transferrina foi calculado pela fórmula ferro sérico / capacidade total de ligação do ferro x 100 e expresso em porcentagem;
- ferritina: realizado pelo método *Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA)*, com o modelo *MiniVidas* da Bio-Mérieux, série SV 122588, Missouri, EUA;
- receptor solúvel de transferrina: realizado por ensaio imunoenzimático, com *kit Quantikine DVD R&D Systems* (Minneapolis, EUA) realizado no aparelho leitor de microplacas de *Elisa Reader 210* acoplado a *Washer 200-Microwell System – Organon Teknica*, Áustria;
- teste de falcização de hemácias pelo método do metabissulfito de sódio.

Os pontos de corte utilizados foram os seguintes⁹⁻¹³:

- hemoglobina: inferior a 11 g/dL para crianças menores de quatro anos e inferior a 11,5 g/dL para aquelas com mais de quatro anos;
- volume corpuscular médio (VCM): inferior a 72 fL para crianças menores de quatro anos e inferior a 75 fL para crianças maiores de quatro anos;
- índice de saturação da transferrina: inferior a 12%;
- ferritina: inferior a 12 ng/mL;
- receptor de transferrina: superior a 28 nmol/L.

RESULTADOS

Respeitados os critérios de inclusão e exclusão e as perdas, o número final de crianças incluídas no estudo foi de 119, sendo 50,4% do sexo feminino. As crianças foram agrupadas de acordo com o estado nutricional de ferro, utilizando-se modelo de compartimento de distribuição de ferro proposto por Cook e

Finch¹², conforme Tabela 1. Na população estudada, 81 crianças foram diagnosticadas como anêmicas com prevalência de 68,1%.

Tabela 1 - Caracterização das 119 crianças segundo modelo de compartimentos de distribuição de ferro no organismo humano no município de Pontal

Estado nutricional de ferro	Número	Porcentagem
Bom estado nutricional de ferro (Hb ↑ + IST ↑ + FT ↑ + RT ↓)	14	11,7%
Depleção dos estoques de ferro (Hb ↑ + IST ↑ + FT ↓ + RT ↓)	7	5,9%
Baixa eritropoese por redução de ferro disponível (Hb ↑ + IST ↓ + FT ↓ + RT ↑)	17	14,3%
Anemia ferropriva (Hb ↓ + IST ↓ e/ou FT ↓ e/ou RT ↑)	61	51,3%
Anemia sem deficiência de ferro detectada (Hb ↓ + IST ↑ + FT ↑ + RT ↓)	20	16,8%
(Macrofítica)	(0)	
(Microfítica)	(1)	
(Normofítica)	(19)	
(CTLF < 200 microg/dL)	(3)	
(Ferritina > 120 ng/mL)	(1)	
Total	119	100%

Hb: hemoglobina, IST: índice de saturação da transferrina, FT: ferritina, RT: receptor de transferrina, CTLF: capacidade total de ligação do ferro.

↑: valor acima do ponto de corte
↓: valor abaixo do ponto de corte

Do total de crianças anêmicas, 61 delas (75,3%) apresentaram pelo menos um indicador de deficiência de ferro. No subgrupo de 20 crianças com anemia e sem sinais de deficiência de ferro, mostradas na Tabela 2, 19 apresentaram normocitose. Nesse grupo foram encontradas quatro crianças com possibilidade de processo inflamatório, sendo uma com ferritina acima de 120 ng/mL e três com CTLF inferior a 200 microg/dL. Além disso, uma única criança teve microcitose com valores de CTLF e ferritina dentro da normalidade. Nas demais 15 crianças o diagnóstico preciso da anemia não pôde ser determinado a partir dos exames realizados.

DISCUSSÃO

A análise inicial da Tabela 1 mostra que 88,3% das crianças apresentavam anemia e/ou deficiência de ferro. Em estudo realizado com modelo semelhante, Looker *et al.*¹⁴ nos Estados Unidos encontraram pre-

valências variando entre 3 e 9% entre crianças de 12 a 60 meses, valor cerca de 10 vezes inferior ao encontrado no presente estudo. No Brasil, não existem estudos nacionais avaliando simultaneamente anemia e deficiência de ferro, entretanto, dados recentes mostram que, em relação à anemia, a prevalência nacional é estimada em 53%¹⁵ menos, portanto, que a encontrada no presente estudo (68,01%).

Das 81 crianças anêmicas havia 20 com todos os exames relativos ao estado nutricional de ferro (ferritina, índice de saturação da transferrina, receptor de transferrina) dentro dos limites normais. Segundo o modelo vigente proposto por Cook¹⁶ e utilizado em

diversos estudos¹⁷, a queda na hemoglobina deve ser o último estágio da depleção de ferro, levando a que, teoricamente, todas as crianças com hemoglobina baixa deveriam ter sinais de deficiência de ferro caso fossem efetivamente portadoras de anemia tipo ferropriva. De fato, considerando-se a prevalência elevada dessa condição no país¹⁵ e na região estudada, em particular⁸, a existência de 16,8% de crianças com hemoglobina baixa, mas bom estado nutricional de ferro, necessita de investigação cuidadosa. Faber & Benade¹⁸, em crianças sul-africanas, também obtiveram prevalência de 62,6% de anemia contrastando com 43,2% de crianças com baixos valores de ferritina.

Tabela 2 - Caracterização das 20 crianças com diagnóstico de anemia sem deficiência de ferro

Parâmetros de diagnóstico							N
Apenas normocitose							15
Apenas microcitose							1
Normocitose com CTLF < 200 microg/dL							3
Normocitose com ferritina > 120 ng/mL							1
Descrição individual							
Caso	Idade (meses)	Sexo 1=meninos 2=meninas	Hb g/dL	VCM fL	FT ng/mL	RT nmol/L	IST %
8	60,25	1	11,2	81,7	30,4	25,6	14,8
12	55,4	2	10,5	81,4	33,2	26,7	23,8
23	26,1	2	10,8	78,6	60,9	23,2	21,8
41	71,9	2	10,9	88,8	20,8	21	12,5
45	41,5	2	7,8	82,08	46,2	27,3	21,7
57	49,02	1	11,4	79,6	37,8	25,8	49,6
70	63,5	1	11,3	80,1	32,9	22,3	35,3
81	61,7	2	10,1	80,1	79,6	23,3	30,5
88	71,3	1	11,1	82,8	24,2	23,9	38,3
98	63,08	1	10,8	77,2	17,9	27	32,6
103	61,4	2	11,2	83,7	15,9	23,2	44,4
110	66,2	1	11,1	83,1	21,2	21,6	24,9
116	62,1	2	11	83,7	29,1	27,7	41,6
117	41,03	1	10,1	74,5	62,2	17,6	37,3
123	46	2	10,7	75,7	33,69	24,9	16,1
200	59,7	2	10,3	87,03	51,5	24,5	22,2
202	56,6	1	11,4	82,7	19,6	20	17,6
207	53,9	1	11	83,6	54,09	13,6	18,2
212	52,6	2	10,7	80,3	18,9	21,9	14,9
213	48,5	1	11,4	82,7	30,6	26,3	31,7

CTLF: capacidade total de ligação do ferro.

Em estudo recente, Bortolini e Vitolo¹⁹ salientaram, estudando 299 crianças na faixa de idade entre três e quatro anos, que apenas 19,3% daquelas com anemia apresentaram diagnóstico laboratorial de deficiência de ferro e alertaram para o fato de que a anemia no pré-escolar pode ter outras causas além da deficiência de ferro. Nesse grupo de 20 crianças anêmicas, mas com estado nutricional de ferro normal, a possibilidade de existência de casos de alfa-talassemia leve, que tem prevalência de 20 a 30% no Brasil, não pode ser afastada.¹⁹

As possíveis explicações para os resultados observados no presente estudo poderiam ser:

- **erro de laboratório:** essa possibilidade deve estar sempre presente em pesquisas que envolvem dosagens bioquímicas, sendo impossível, no momento, avaliar a dimensão e a probabilidade desse erro. Pode-se afirmar apenas que os dois laboratórios envolvidos são instituições ligadas a universidades e que mantêm rigorosos processos de controle de qualidade;
- **variação diária dos indicadores:** ferritina, capacidade total de ligação do ferro e ferro plasmático apresentam variação diária nos valores obtidos em suas dosagens. Borel *et al.*²⁰ recomendam três a 10 repetições na dosagem desses indicadores para que se tenha certeza da validade dos resultados obtidos, o que seria impraticável no presente estudo;
- **presença de anemias não ferroprivas e “anemias da inflamação”:** nenhuma criança, entre as 20 anêmicas sem deficiência de ferro, apresentou anemia macrocítica (volume corpuscular médio >103 fL). Apenas uma manifestou anemia microcítica, com valor de volume corpuscular médio igual a 74,5 fL, muito próximo, portanto, do ponto de corte. Nesse caso, o principal diagnóstico diferencial seria com a talassemia menor, que não é uma doença frequente nessa região. E no questionário inicial aplicado não se detectou sua presença nos familiares. Entre aquelas com anemia normocítica (volume corpuscular médio entre 75 e 103 fL), os principais diagnósticos diferenciais seriam com as anemias hemolíticas, sendo importantes nessa faixa etária a anemia falciforme e as doenças crônicas.²¹ Assim, foi realizada prova de falcização de hemácias em todas as crianças e todos os resultados foram negativos. Não se apurou durante o questionário inicial história de doenças crônicas e nenhuma dessas crianças estava fazendo uso de qualquer medicamento contínuo. Deve-se ainda considerar que es-

sas crianças possam ser portadoras de “anemia da inflamação” que, segundo Abshire²², é a segunda causa de anemia no mundo, atrás apenas da deficiência de ferro. Apesar da exclusão daquelas crianças acometidas de quadro inflamatório agudo nas duas últimas semanas prévias ao estudo, à exceção dos resfriados comuns afebris, essa anemia pode estar presente pelo período de até três meses após o episódio inflamatório. Para se avaliar a dimensão dessa possibilidade, seguiu-se a recomendação de Cook & Finch¹², na qual valores de capacidade total de ligação do ferro abaixo de 200 microg/dL e/ou valores de ferritina acima de 120 ng/mL podem significar a presença de episódio inflamatório subjacente. Das 20 crianças anêmicas sem deficiência de ferro, em uma a ferritina estava acima de 120 ng/mL e em três o valor de capacidade total de ligação do ferro era inferior a 200 microg/dL. Dessa forma, pode-se explicar como anemia do tipo inflamatória apenas quatro dos 20 casos encontrados. Em trabalho na Venezuela, Taylor *et al.*²³ identificaram 57% de crianças anêmicas com bom estado nutricional de ferro associado a exame físico normal e concluíram que poderia tratar-se de crianças com quadro inflamatório não detectado clinicamente, mas nesse estudo não foram levados em conta os valores anormais de ferritina e capacidade total de ligação do ferro como indicadores de processo inflamatório;

- **inibição da eritropoese:** muitas crianças, mesmo recebendo alimentação rica em ferro, desenvolvem anemia com padrão de ferropriva apesar de se manterem com boas reservas. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar esse fato, que aparece em diversos estudos realizados em todo o mundo. Acredita-se que outras deficiências nutricionais podem levar à dificuldade na incorporação do ferro à molécula de hemoglobina em formação, levando a que, apesar de estar disponível, o ferro não seja efetivamente utilizado. Possivelmente a vitamina A desempenhe importante papel nesse evento e diversos estudos têm demonstrado que crianças tratadas com ferro e vitamina A simultaneamente respondem melhor e mais rapidamente, em termos de recuperação dos níveis normais de hemoglobina, que aquelas tratadas apenas com ferro.²⁴⁻²⁸ Ainda em relação à vitamina A, Staab *et al.*²⁹ informaram que sua deficiência levava ao aumento da deposição de ferritina sequestrada no fígado e indisponível para eritropoese. E Olivares *et al.*³⁰ acreditam que

um bom estado nutricional de vitamina A ajuda a prevenir contra processos infecciosos recorrentes, mantendo a hemoglobina em níveis mais elevados. No presente estudo não foi feita dosagem sanguínea de vitamina A, mas outros estudos conduzidos no Brasil mostraram prevalências elevadas de hipovitaminose A^{31,32}. Pode-se supor que esta também seja uma deficiência nutricional presente em Pontal;

- **insuficiência de indicadores:** no presente estudo não foram utilizados vários dos indicadores já classicamente descritos na avaliação do estado nutricional de ferro³³, como RDW, protoporfirina eritrocitária livre e concentração reticulocitária de hemoglobina. Também não foi avaliada a hemoglobina corpuscular média (HCM), que poderia mostrar a deficiência de ferro de maneira equivalente ao VCM, mas de forma um pouco mais precoce. No presente estudo, optou-se pelo VCM por se ter encontrado, na revisão bibliográfica inicial, mais quantidade de estudos com esse indicador. Outro potencial marcador também não avaliado, de descrição mais recente, é a hepcidina, hormônio envolvido na homeostase do ferro no organismo, sendo encontrada em amostras de sangue e urina. Embora novos estudos de mais consistência sejam necessários para definição da sua aplicabilidade diagnóstica, percebe-se sua redução nas anemias por deficiência de ferro diferentemente de outras formas crônicas.^{34,35} É possível que, para algumas das crianças, esses marcadores tivessem sido capazes de demonstrar a deficiência de ferro;
- **anemia “estatística”:** algumas crianças com valores de hemoglobina abaixo dos dois desvios-padrão podem ser absolutamente normais do ponto de vista fisiológico e representarem tão somente a “cauda” da distribuição gaussiana dos valores em torno da média;
- **inconsistência do modelo:** segundo Dewey *et al.*⁷, após uma série de trabalhos em que não se registrou a queda nos valores de ferritina precedendo o surgimento da anemia, pode-se supor que esse modelo não se aplique durante a infância.

diagnósticas de anemia e deficiência de ferro em crianças. Parece evidente que a utilização do modelo diagnóstico atual inclui significativo número de crianças anêmicas sem diagnóstico causal preciso, o que é altamente relevante do ponto de vista clínico e de saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers. Geneva: WHO; 2001.
2. LÖNnerdal B. Dietary factors affecting trace element absorption in infants. *Acta Paediatr*. 1989;78:109-13.
3. Balarajan Y, Ozaltin E, Shankar AH, Subramanian SV. Anaemia in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 2011 Dec 17; 378(9809):2123-35.
4. Yadav D, Chandra J. Iron Deficiency: Beyond anemia. *Indian J Pediatr*. 2011; 78(1):65-72.
5. Lozoff B, Wolf AW, Jimenez E. Iron-deficiency anemia and infant development: effects of extended oral iron therapy. *J Pediatr*. 1996 Sep; 129(3):382-9.
6. Janus J, Moerschel SK. Evaluation of anemia in children. *Am Fam Physician*. 2010 June 15;81(12):1462-71.
7. Dewey KG, Cohen RJ, Rivera LL, Brown KH. Effects of age of introduction of complementary foods on iron status of breast-fed infants in Honduras. *Am J Clin Nutr*. 1998 May; 67(5):878-84.
8. Nogueira-de-Almeida CA, Ricco RG, Del Ciampo LA, de Souza AM, Dutra-de-Oliveira JE. Growth and hematological studies on Brazilian children of low socioeconomic level. *Arch Latinoam Nutr*. 2001 Sep; 51(3):230-5.
9. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*. 1998 Apr 3; 47(RR-3):1-29.
10. Expert Scientific Working Group Summary of a report on assessment of the iron nutritional status of the United States population. *Am J Clin Nutr*. 1985 Dec; 42(6):1318-30.
11. Yip R, Johnson C, Dallman PR. Age-related changes in laboratory values used in the diagnosis of anemia and iron deficiency. *Am J Clin Nutr*. 1984 Mar; 39(3):427-36.
12. Cook JD, Finch CA. Assessing iron status of a population. *Am J Clin Nutr*. 1979 Oct; 32(10):2115-9.
13. Dallman PR, Siimes MA, Stekel A. Iron deficiency in infancy and childhood. *Am J Clin Nutr*. 1980 Jan; 33(1):86-118.
14. Looker AC, Dallman PR, Carroll MD, Gunter EW, Johnson CL. Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA*. 1997 Mar 26; 277(12):973-6.
15. Jordão REB, Bernardi JLD, Barros Filho, AA. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. *Rev Paul Pediatr*. 2009; 27(1):90-8.
16. Cook JD, Baynes RD, Skikne BS. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr Res Rev*. 1992 Jan; 5(1):198-202.

CONCLUSÃO

Os dados apresentados remetem para a necessidade da evolução do conhecimento científico nessa área, na busca por melhorias nas técnicas

17. Cusick SE, Looker AC, Cogswell ME, Pfeiffer CM, Grummer-Strawn L. Iron-status indicators. *Pediatrics*. [Comment Letter]. *Pediatrics*. 2008 Mar; 121(3):651-2; author reply 2.
18. Faber M, Benade AJ. Nutritional status and dietary practices of 4-24-month-old children from a rural South African community. *Public Health Nutr*. 1999 Jun; 2(2):179-85.
19. Bortolini GA, Vitolo MR. Relationship between iron deficiency and anemia in children younger than 4 years. *J Pediatr (Rio J)*. 2010 Nov-Dec; 86(6):488-92.
20. Borel MJ, Smith SM, Derr J, Beard JL. Day-to-day variation in iron-status indices in healthy men and women. *Am J Clin Nutr*. 1991 Oct; 54(4):729-35.
21. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, de Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr*. 2009 Apr; 12(4):444-54.
22. Abshire TC. The anemia of inflammation. A common cause of childhood anemia. *Pediatr Clin North Am*. 1996 Jun; 43(3):623-37.
23. Taylor PG, Martinez-Torres C, Mendez-Castellano H, *et al*. The relationship between iron deficiency and anemia in Venezuelan children. *Am J Clin Nutr*. 1993 Aug; 58(2):215-8.
24. Semba RDMJ, Muhilal MPH, West KP, *et al*. Impact of vitamin A supplementation on hematological indicators of iron metabolism and protein status in children. *Nutr Res*. 1992; 12(4/5):469-72.
25. Bloem MW, Wedel M, van Agtmaal EJ, Speek AJ, Saowakontha S, Schreurs WH. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. *Am J Clin Nutr*. 1990 Jan; 51(1):76-9.
26. Mejia LA, Arroyave G. The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. *Am J Clin Nutr*. 1982 Jul; 36(1):87-93.
27. Mejia LA, Chew F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr*. 1988 Sep; 48(3):595-600.
28. Suharno D, West CE, Muhilal KD, Hautvast JG. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet*. 1993 Nov 27; 342(8883):1325-8.
29. Staab DB, Hodges RE, Metcalf WK, Smith JL. Relationship between vitamin A and iron in the liver. *J Nutr*. 1984 May; 114(5):840-4.
30. Olivares M, Walter T, Hertrampf E, Pizarro F. Anaemia and iron deficiency disease in children. *Br Med Bull*. 1999; 55(3):534-43.
31. Ferraz IS, Daneluzzi JC, Vannucchi H, *et al*. Detection of vitamin A deficiency in Brazilian preschool children using the serum 30-day dose-response test. *Eur J Clin Nutr*. 2004 Oct; 58(10):1372-7.
32. Goncalves-Carvalho CM, Amaya-Farfan J, Wilke BC, Vencovsky R. Prevalence of hypovitaminosis A in children of peripheral districts of Campinas Sao Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 1995 Jan-Mar; 11(1):85-96.
33. Baker RD, Greer FR. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics*. 2010 Nov; 126(5):1040-50.
34. Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*. 2008 Jan; 93(1):90-7.
35. Lemos Ados R, Ismael LA, Boato CC, Borges MT, Rondo PH. Hepcidin as a biochemical parameter for the assessment of iron deficiency anemia. *Rev Assoc Med Bras*. 2010 Sep-Oct; 56(5):596-9.