



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

TATIANE GRAÇA MARTINS

**FATORES ASSOCIADOS E REPERCUSSÕES NUTRICIONAIS DO DESMAME EM
LACTENTES COM ALERGIA AO LEITE DE VACA: ESTUDO DE COORTE**

ARACAJU/SE

2023

TATIANE GRAÇA MARTINS

**FATORES ASSOCIADOS E REPERCUSSÕES NUTRICIONAIS DO DESMAME EM
LACTENTES COM ALERGIA AO LEITE DE VACA: ESTUDO DE COORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de
Doutora em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Queiroz Gurgel

Coorientadora: Dr^a Anne Jardim Botelho

ARACAJU/SE

2023

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE – BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

M386f Martins, Tatiane Graça
Fatores associados e repercussões nutricionais do desmame em lactentes com alergia ao leite de vaca: estudo de coorte/ Tatiane Graça Martins ; orientador Ricardo Queiroz Gurgel ; coorientadora Anne Jardim Botelho. – Aracaju, 2023.
88 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2023.

1. Ciências da saúde. 2. Amamentação. 3. Lactentes - Desmame. 4. Intolerância a lactose em crianças. 5. Crianças - Nutrição. I. Gurgel, Ricardo Queiroz, orient. II. Botelho, Anne Jardim, coorient. III. Título.

CDU 618.73

TATIANE GRAÇA MARTINS

**FATORES ASSOCIADOS E REPERCUSSÕES NUTRICIONAIS DO DESMAME EM
LACTENTES COM ALERGIA AO LEITE DE VACA: ESTUDO DE COORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de
Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em 19 de dezembro de 2023

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Queiroz Gurgel
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Coorientadora: Dr^a Anne Jardim Botelho
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Profa. Dra. Elaine Cristina de Almeida Kotchetkoff
Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Profa. Dra. Joseilze Santos de Andrade
Universidade Federal de Sergipe – UFS

Dra. Jackeline Motta Franco
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Profa. Dra. Sarah Cristina Fontes Vieira
Universidade Federal de Sergipe - UFS

DEDICATÓRIA

A minha avó Amozita que partiu para virar estrela no céu, antes do fim dessa minha jornada. Analfabeta, sabia o quão importante eram os estudos e incansavelmente caminhava quilômetros todos os dias para me levar e me pegar na escola. Vó, dedico todo meu conhecimento a senhora. Gratidão... Saudades...

AGRADECIMENTOS

À Deus, à minha família, a meu orientador, à minha coorientadora, aos amigos, aos profissionais de saúde, aos professores, aos estudantes, aos pais, as crianças... a todos que estiveram comigo nessa jornada, a minha eterna gratidão e estima. E faço das palavras de melodia de Flavia Wenceslau as minhas para cada um de vocês...

*Eu te desejo vida, longa vida
Te desejo a sorte de tudo que é bom
De toda alegria, ter a companhia
Colorindo a estrada em seu mais belo tom*

*Eu te desejo a chuva na varanda
Molhando a roseira pra desabrochar
E dias de sol pra fazer os teus planos
Nas coisas mais simples que se imaginar*

*E dias de sol pra fazer os teus planos
Nas coisas mais simples que se imaginar*

*Eu te desejo a paz de uma andorinha
No voo perfeito, contemplando o mar
E que a fé movedora de qualquer montanha
Te renove sempre, te faça sonhar*

*Mas se vier as horas de melancolia
Que a lua tão meiga venha te afagar
E que a mais doce estrela seja tua guia
Como mãe singela a te orientar*

*Eu te desejo mais que mil amigos
A poesia que todo poeta esperou
Coração de menino cheio de esperança
Voz de pai amigo e olhar de avô*

*Eu te desejo muito mais que mil amigos
A poesia que todo poeta esperou
Coração de menino cheio de esperança
Voz de pai amigo e olhar de avô*

*Te desejo vida
Flávia Wenceslau*

EPÍGRAFE

*“Sei, que os que confiam no Senhor
Revigoram suas forças, suas forças se renovam
Posso até cair ou vacilar,
mas consigo levantar pois recebo dele asas
E como águia me preparo pra voar”*

Eros Biondini

RESUMO

Objetivo: Analisar os fatores associados e as repercussões nutricionais do desmame em lactentes com alergia ao leite de vaca (ALV) assistidos no Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe. **Método:** Estudo de coorte prospectivo, com um grupo caso (crianças com ALV) e dois grupos controle (crianças sintomáticas não-alérgicas/CS e assintomáticas/CA). No início do estudo, 166 crianças perfaziam o total de voluntários, das quais 30 crianças compuseram o grupo ALV, 84 o grupo CS e 52 o grupo CA. No final do estudo, o grupo ALV continuou com 30 crianças, o grupo CS com 41 e o grupo CA com 23 criança. Foram coletados dados socioeconômicos, antropométricos, sobre amamentação, os utensílios para a oferta de fórmulas infantis e os fatores que motivaram o desmame conforme a perspectiva materna. Foi realizada Análise de Sobrevida para comparação do tempo de aleitamento materno entre os três grupos de estudo e foi realizado modelo de Regressão Linear para verificar os fatores associados ao tempo de aleitamento. **Resultados:** No início do estudo 33,3% das crianças do grupo ALV, 17,1% do grupo CS e 69,6% do grupo CA estavam em aleitamento materno exclusivo ($p=0,005$). Os fatores mais frequentes de desmame nas crianças com ALV foram a dieta de eliminação do leite de vaca (30%), sintomas alérgicos na criança (20%) e ingurgitamento mamário (20%). Crianças que utilizaram o copinho como via de oferta de fórmula infantil passaram 279 dias a mais em aleitamento materno em comparação às que usaram mamadeira ($B^{\text{std}}=1,38$; $p=0,029$). Do total de crianças avaliadas, 2,1% apresentaram baixa estatura ($E/I < -2$) e 3,2% peso elevado para a idade ($P/I > 2$) no início do estudo. A vitamina D apresentou concentrações séricas menores quanto mais tempo a criança continuou em aleitamento materno. **Conclusão:** Crianças com ALV e com queixas gastrointestinais não-alérgicas desmamaram mais precocemente em relação a crianças assintomáticas. As principais causas de desmame em crianças ALV foram: dificuldade de adesão à dieta de eliminação, ingurgitamento mamário e reações alérgicas das crianças. O uso do copinho foi o principal fator associado à maior duração da amamentação. O perfil nutricional não variou significativamente de acordo com o tempo de aleitamento materno, a exceção da vitamina D.

Descritores: Aleitamento materno. Desmame. Hipersensibilidade a leite.

ABSTRACT

Objective: To analyze the associated factors and nutritional repercussions of weaning in infants with cow's milk allergy (CMA) assisted at the Sergipe Food Allergy Center. **Method:** Prospective cohort study, with a case group (children with CMA) and two control groups (symptomatic non-allergic/CS and asymptomatic/CA children). At the beginning of the study, 166 children made up the total number of volunteers, of which 30 children made up the ALV group, 84 the CS group and 52 the CA group. At the end of the study, the CMA group continued with 30 children, the CS group with 41 and the CA group with 23 children. Socioeconomic, anthropometric, breastfeeding data, utensils for offering infant formula and the factors that motivated weaning were collected from the maternal perspective. Survival Analysis was performed to compare breastfeeding time between the three study groups and a Linear Regression model was performed to verify the factors associated with breastfeeding time. **Results:** At the beginning of the study, 33.3% of children in the CMA group, 17.1% in the CS group and 69.6% in the CA group were exclusively breastfed ($p=0.005$). The most common factors for weaning in children with CMA were the cow's milk elimination diet (30%), allergic symptoms in the child (20%) and breast engorgement (20%). Children who used a cup as a means of offering infant formula spent 279 more days breastfeeding compared to those who used a bottle ($B_{std}=1.38$; $p=0.029$). Of the total number of children assessed, 2.1% were short ($HAZ < -2$) and 3.2% were overweight for their age ($WAZ > 2$) at the beginning of the study. Vitamin D showed lower serum concentrations the longer the child continued breastfeeding. **Conclusion:** Children with CMA and non-allergic gastrointestinal complaints weaned earlier compared to asymptomatic children. The main causes of weaning in CMA children were: difficulty adhering to the elimination diet, breast engorgement and allergic reactions in children. Using a sippy cup was the main factor associated with longer breastfeeding duration. The nutritional profile did not vary significantly according to the duration of breastfeeding, with the exception of vitamin D.

Descriptors: Breastfeeding. Weaning. Milk hypersensitivity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais e socioeconômicas por grupo de estudo.-----	38
Tabela 2 - Tipo de aleitamento, uso de chupeta e idade de início da alimentação complementar por grupo de estudo. -----	38
Tabela 3 - Tempo de aleitamento materno exclusivo no início da pesquisa por grupo de estudo. -----	39
Tabela 4 - Prevalência de aleitamento materno no início e ao final do seguimento. -----	39
Tabela 5 - Causas de desmame do leite materno na perspectiva materna. -----	41
Tabela 6 - Fatores associados ao tempo de aleitamento materno em lactentes com e sem alergia ao leite de vaca; associações não ajustadas e ajustadas. -----	42
Tabela 7 - Mediana dos índices antropométricos e dos biomarcadores em crianças com ALV e dos grupos controle sintomático e assintomático no início e final do estudo. -----	43
Tabela 8 - Associação entre aleitamento materno e parâmetros nutricionais no início e no final do estudo. -----	45
Tabela 9 - Análise da associação entre o desmame, o tempo de amamentação e os parâmetros nutricionais. -----	46

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- População do estudo na fase inicial e final da pesquisa. -----	26
Figura 2 - Critérios de recrutamento da população do estudo. -----	27
Figura 3 – Fluxograma de coleta de dados - Médicas. -----	30
Figura 4 - Fluxograma de coleta de dados - Nutricionista. -----	31
Figura 5 – Fluxograma de coleta de dados - Enfermagem.-----	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Alergia alimentar

ABEP – Associação Brasileira de Empresas de Pesquisas

ALV – Alergia ao leite de vaca

AM – Aleitamento materno

AME – Aleitamento materno exclusivo

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APLV – Alergia às proteínas do leite de vaca

CA – Grupo controle assintomático

CS – Grupo controle sintomático

CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no SUS

DRGE – Doença do Refluxo Gastroesofágico

DRACMA – *Diagnosis and Rationale against Cow's Milk Allergy*

EEo – Esofagite Eosinofílica

ENANI – Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil

FPE – *Food Protein Induced Enteropathy*/Enteropatia Induzida por Proteína Alimentar

FPIAP – *Food Protein Induced Allergic Proctocolitis*/Proctocolite Alérgica Induzida por Proteína Alimentar

FPIES – *Food Protein Induced Enterocolitis Syndrome*/Síndrome da Enterocolite Induzida por Proteína Alimentar

IgE – Imunoglobulina E

LM – Leite materno

MS – Ministério da Saúde

NAAS – Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe

NBCAL – Norma Brasileira para Comercialização de Alimentos para Lactentes

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

PRACTALL – *Practical Allergy*

SUS – Sistema Único de Saúde

TPO – Teste de provocação oral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Aleitamento materno	16
2.2 Alergia ao leite de vaca	18
2.3 Aleitamento materno em crianças com alergia ao leite de vaca	22
3. OBJETIVOS.....	24
Objetivo Geral	24
Objetivos Específicos	24
4. MÉTODOS	25
4.1 Desenho do estudo	25
4.2 Campos de estudo	27
4.3 População e amostra do estudo	28
4.4 Variáveis do estudo	28
4.5 Coleta de dados.....	28
4.6 Análise dos dados	34
4.7 Aspectos éticos	35
5. RESULTADOS	37
5.1 Taxas e tempo de aleitamento materno	39
5.2 Causas de desmame na perspectiva materna e fatores associados ao tempo de aleitamento materno	40
5.3 Repercussões do desmame na nutrição das crianças	43
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÃO.....	52
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

ANEXO A - Questionário geral.....	59
ANEXO B - Questionário de classificação do nível socioeconômico familiar no Brasil ..	61
ANEXO C - Formulário ‘idade de introdução de alimentos novos’	64
ANEXO D - Antropometria.....	66
ANEXO E - Termo de consentimento livre e esclarecido	68
ARTIGO ORIGINAL 1 - Submetido.....	70
ARTIGO ORIGINAL 2 - Publicado	72

1. INTRODUÇÃO

O aleitamento materno é mundialmente reconhecido como uma das melhores estratégias em saúde pública para a sobrevivência infantil, para a qualidade de vida na fase adulta e para reduções dos custos em saúde (Rollins et al., 2016; North et al., 2022). Contudo, em países de baixa e média renda, o aleitamento materno exclusivo (AME) está presente em apenas 37% das crianças menores de seis meses de idade (Victora et al., 2016). No Brasil, dados do último Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI) informam prevalência de 45,7% de AME e a região Nordeste possui a menor taxa do país (39%) (WHO, 2014; UFRJ, 2021). Em crianças até os dois anos de idade, a prevalência de aleitamento materno é de 60,3%, mas em crianças com alergia ao leite de vaca a prevalência é de 0,5% na mesma faixa etária (Brasil, 2018; UFRJ, 2021).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde (MS) recomendam o aleitamento materno até os dois anos de idade ou mais, sendo exclusivo até os seis meses de vida, por considerar o leite materno o alimento padrão ouro para a nutrição da criança além de aumentar o vínculo mãe-filho (Brasil, 2015; Lima; Nascimento; Martins, 2018).

A interrupção do aleitamento materno (AM) pode ocorrer por multivariadas causas. A preocupação dos pais mediante a instabilidade comportamental dos recém-nascidos (choros, irritabilidade, sono instável etc.), a produção insuficiente de leite materno (LM) relatada pelas mães, a introdução precoce de outros alimentos e de fórmulas infantis nos primeiros dias de vida do bebê, o *marketing* das indústrias de fórmulas infantis, as políticas públicas de incentivo ao AM limitadas e a suspeita de alergias e reações ao LM são descritas como fatores causais do desmame em países de baixa e média renda (Pérez-Escamilla et al., 2023).

Nas últimas décadas, a prevalência das alergias alimentares vem aumentando, no entanto, informações sobre sua prevalência ainda são baseadas em estimativas. O leite de vaca é um dos principais alérgenos alimentares na infância. Em países desenvolvidos estima-se que a prevalência da alergia ao leite de vaca (ALV) esteja em torno de 0,5 a 3% das crianças no primeiro ano de vida. No Brasil, estudo epidemiológico realizado por gastroenterologistas pediátricos informou uma prevalência de 5,4% e incidência de 2,2% de ALV em crianças atendidas nos serviços do estudo (Vieira et al., 2010; Solé et al., 2018; CONITEC, 2022). Em um estudo transversal realizado na cidade de Limoeiro, no nordeste do Brasil, a prevalência da ALV em crianças pré-escolares foi de 1,7% (José et al., 2022). A ALV é considerada um

problema de saúde pública mundial (Heine, 2018), com repercussões sociais e econômicas tanto para as famílias, como para os governos. As despesas com alergias alimentares são consideráveis variando em cada país conforme a política de custeio e de saúde (Fong et al., 2022).

A alergia alimentar manifesta-se com sintomas inespecíficos, muitas vezes difíceis de serem distinguidos dos distúrbios gastrointestinais, podendo englobar também os sistemas respiratório, cutâneo, cardiovascular e neurológico. O tratamento consiste na exclusão do leite de vaca e derivados da dieta da criança e da mãe (quando o lactente apresenta reações ao leite de vaca por meio do leite materno), com a inclusão de fórmulas infantis hipoalergênicas ou não alergênicas, quando o aleitamento materno é inviável ou insuficiente (Cordero; Prado; Jiménez, 2018; Solé et al., 2018).

A dieta de exclusão para tratamento da ALV pode ser um fator de risco para desnutrição (Brasil, 2022) e para o desmame do leite materno, embora ainda sejam escassos os estudos que avaliam as taxas e os motivos do desmame em lactentes com essa doença. Crianças em aleitamento materno exclusivo (AME) apresentam menores taxas de ALV, provavelmente devido à menor alergenicidade das proteínas contidas no leite materno, pela presença de imunorreguladores no leite humano e pela promoção de microbiota intestinal que favoreça a tolerância oral (Cordero; Prado; Jiménez, 2018; Lima; Nascimento; Martins, 2018; Solé et al., 2018).

Apesar dos guias atuais para o tratamento da ALV reforçarem a importância de manter o aleitamento materno no manejo da doença (Fox et al., 2019), as taxas de desmame nesse grupo de crianças ainda são elevadas (Brasil, 2018). Estudos sugerem que taxas maiores de desmame podem aumentar a probabilidade de ALV (José et al., 2016; Solé et al., 2018; Bomfim et al., 2021). É essencial que os profissionais de saúde entendam essa relação e utilizem a educação em saúde como instrumento transformador de orientação especializada para apoio às mães de crianças com ALV e continuidade da amamentação (Folker-Maglaya et al., 2018; Pires et al., 2022).

Serviços de saúde especializados com protocolos clínicos instituídos, como o Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), são importantes para o manejo dessa doença e para a redução dos processos judiciais e dos custos com fórmulas especiais. Dados referentes a 2022, estimaram que no Brasil há 25 programas estaduais e 9 municipais para o atendimento de crianças com ALV (Rocha-Correia; Felipe, 2023). Nos últimos anos, a assistência a crianças

até dois anos de idade com ALV nos serviços de referência aumentou de 0,4% em 2012 para 1,2% em 2019, conforme dados do Ministério da Saúde. O impacto orçamentário para as Secretarias Estaduais de Saúde brasileiras na compra de fórmulas especiais calculado em 2018 pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no SUS (CONITEC) foi de R\$ 659.212.776,41 em cinco anos de integração para dispensação dessas fórmulas nos serviços especializados (Brasil, 2018, 2022).

Diante do exposto, percebe-se a importância em pesquisar a associação do desmame e a ALV em lactentes, da qual surgiram as seguintes questões norteadoras: Quais os fatores que motivaram as mães de crianças com ALV a desmamarem seus filhos? Quais as repercussões nutricionais nessas crianças? Quais são as taxas de aleitamento materno em crianças com ALV assistidas no NAAS? E como hipóteses a serem investigadas no estudo: os fatores associados ao desmame do leite materno são diferentes em crianças com e sem ALV e há prejuízo nutricional em crianças desmamadas. Espera-se que os resultados desse estudo contribuam para os serviços especializados em alergia alimentar atentarem aos fatores do desmame nessa população, para a elaboração de estratégias de incentivo à continuidade do aleitamento materno, para a prevenção de déficits nutricionais e para a redução dos gastos públicos com a dispensação de fórmulas especiais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aleitamento materno

O aleitamento materno é um determinante de saúde com benefícios relevantes para a saúde do binômio mãe-filho. Os benefícios à criança incluem melhor desempenho cognitivo, prevenção da desnutrição e de infecções respiratórias, redução dos casos de enterocolite necrotizante e de diarreia, menor risco de obesidade e de diabetes em longo prazo. Para a lactante, reduz o risco de câncer de mama, de câncer de ovário, diabetes, obesidade e aumenta o tempo de amenorreia lactacional. (Rollins et al., 2016; Victora et al., 2016; UFRJ, 2021).

O leite materno possui bioativos em sua composição como anticorpos, vitaminas, lipídios, enzimas, hormônios, etc., responsáveis pelo desenvolvimento do recém-nascido e pela regulação do seu sistema imunológico (Zepeda-Ortega et al., 2021; Lokossou et al., 2022). Células imunológicas como células B, T e *Natural Killer*, macrófagos, neutrófilos e linfócitos são secretadas no LM e estimulam a microbiota intestinal do recém-nascido, podendo contribuir na prevenção de doenças alérgicas (Van Den Elsen et al., 2019).

Um dos fatores que prejudicam a consolidação do aleitamento materno é a prematuridade da criança e o baixo peso ao nascer, que levam à postergação do início do aleitamento devido à pega e à sucção ineficazes, com consequente redução na produção de leite materno (Rollins et al., 2016; Cortelo, 2017; Bomfim et al., 2021).

Outros fatores que também podem afetar o estabelecimento da amamentação incluem aspectos políticos, sociais, econômicos e psicológicos, seja por um início tardio do AM ou pelo desmame precoce, como a ausência de locais para amamentação nos ambientes de trabalho, licenças maternidades por curto período, nível de escolaridade dos pais, a desinformação sobre as consequências do desmame precoce, a crescente divulgação de fórmulas infantis pelas indústrias alimentícias, a introdução dessas fórmulas, a falta de apoio familiar e a depressão materna. Fatores culturais também podem influenciar negativamente no aleitamento materno, como relatos de familiares e pessoas próximas de que o leite materno é fraco ou insuficiente, bem como o estímulo ao uso de chupetas e mamadeiras (Rollins et al., 2016; Cortelo, 2017; Bomfim et al., 2021; Dutheil et al., 2021).

O desmame precoce leva ao início prematuro da dieta complementar, fator relacionado a maiores taxas na infância de doenças respiratórias, gastrointestinais

(principalmente de diarreias), alérgicas, de aterosclerose e doenças crônicas não transmissíveis na fase adulta. Devido à ausência da ingestão dos anticorpos e dos nutrientes presentes no leite materno e ao início precoce de alimentos complementares, as crianças ficam mais susceptíveis à desnutrição, hospitalizações e óbitos (Bomfim et al., 2021). No Brasil, a alimentação complementar ao leite materno é introduzida precocemente em cerca de 9% das crianças de 0 a 1 mês de vida, em 16% das crianças com 2 a 3 meses e 38% das crianças com 4 a 5 meses de idade (Brasil, 2015; Okafoagu et al., 2017).

A complementação do LM com fórmulas infantis também pode levar ao desmame por diminuir o tempo de aleitamento materno e pelo uso de bicos artificiais que modificam o mecanismo de sucção e de deglutição do bebê, levando a uma pega incorreta da mama (confusão de bicos). O uso de bicos e chupetas podem ocasionar dificuldades para a implantação da amamentação ou o desmame (Buccini et al., 2017; WHO, 2018) e em longo prazo, o surgimento de alterações orofaciais e de cáries dentárias (Fazal, 2018). A prevalência do uso de chupeta no Brasil, em crianças menores de dois anos, é de 43,9% e no Nordeste 42,7%, (UFRJ, 2021). A Academia Americana de Pediatria recomenda o uso de chupeta para evitar a síndrome da morte súbita a partir da terceira ou quarta semana de vida da criança, momento em que a amamentação ao seio materno está melhor estabelecida (Buccini et al., 2017; SBP, 2017; Amaral et al., 2020; Jalali et al., 2021; UFRJ, 2021).

Nos últimos anos, o Brasil tem apresentado aumento dos índices de aleitamento materno. Contudo, ainda não houve alcance das metas recomendadas pela OMS e pelo MS de aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de vida e o seguimento do aleitamento materno até os dois anos ou mais, apesar dos esforços nacionais e internacionais de longa data (Brasil, 2017).

Em 1981, foi aprovado na 34ª Assembleia Mundial da Saúde, composta por países membro da Organização das Nações Unidas (ONU), o Código Internacional de Comercialização de Substitutos do Leite Materno. Este foi um marco político importante para a regulamentação da responsabilidade dos Estados, das instituições e de profissionais de saúde em defesa da amamentação e para o controle da divulgação/comercialização das fórmulas infantis substitutivas do leite materno. O código é composto por 10 aspectos, entre eles, a proibição da distribuição de amostras das fórmulas para as lactantes e divulgação dos produtos na mídia e nas instituições de saúde, a importância do leite materno expresso nos rótulos, bem como os perigos de uma alimentação artificial, dentre outros. Contudo, o *marketing* das

fórmulas infantis continua exercendo forte influência sobre os pais, ao divulgar que as fórmulas infantis são tão nutritivas quanto o leite materno. Portanto, para resultados positivos é necessário políticas de monitoramento da aplicação do código pelos governos (Victora et al., 2016; Fazal, 2018; Romo-Palafox; Pomeranz; Harris, 2020; Jones et al., 2022). No Brasil, em 1992, foi aprovada a Norma Brasileira para Comercialização de Alimentos para Lactentes (NBCAL), com o mesmo objetivo do código internacional (Brasil, 2017).

Resultados promissores são observados com a implementação de políticas públicas de saúde consolidadas para promoção e defesa do aleitamento materno e de equipes de saúde capacitadas para assistir e orientar a mãe e os familiares sobre o aleitamento materno no pré-natal, imediatamente após o parto e durante a fase de lactação (Rollins et al., 2016; Cortelo, 2017; Bomfim et al., 2021).

2.2 Alergia ao leite de vaca

A alergia alimentar (AA) é definida como uma reação adversa ao alimento envolvendo o sistema imunológico, mediada e/ou não por imunoglobulinas E (IgE) após contato com o alimento alergênico (Cordero; Prado; Jiménez, 2018). A alergia ao leite de vaca (ALV) está entre as alergias alimentares mais frequentes na infância e desencadeia sintomatologia diversa ocasionada por uma hipersensibilidade reativa do sistema imunológico, principalmente às proteínas caseína, alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina. Manifesta-se geralmente nos primeiros seis meses de vida, com sintomas imediatos, dentro das primeiras duas horas após ingestão de leite (IgE mediada) ou após horas ou dias da ingestão (IgE não-mediada) (Vandenplas et al., 2021; Zanetti; Silva, 2022).

História familiar de doenças alérgicas, como rinite alérgica, asma, dermatite atópica e alergia alimentar em pais e/ou irmãos, são fatores de risco para o surgimento das alergias alimentares na criança. Estudos demonstram que fatores ambientais, como local de nascimento, tipo de parto e a qualidade da alimentação materna, também podem influenciar o risco de alergias alimentares, contudo essas evidências precisam ser melhor estudadas (Zepeda-Ortega et al., 2021).

Segundo as novas diretrizes do DRACMA - *Diagnosis and Rationale against Cow's Milk Allergy* (2022), acredita-se não ter ocorrido aumento na prevalência da ALV em

relação às outras alergias alimentares. Contudo, as reações anafiláticas se tornaram mais presentes, gerando maior letalidade em crianças alérgicas ao leite de vaca (Fiocchi et al., 2022). Segundo Hossny et al (2019), o diagnóstico da ALV é superestimado quando baseado apenas no relato dos genitores ou com base apenas nos resultados de exames de IgEs. sendo, portanto, necessária a confirmação da doença pelo teste de provocação oral (TPO), devido aos riscos nutricionais da dieta de exclusão (Hossny et al., 2019; Fiocchi et al., 2022).

Em 2022, o TPO foi incorporado no Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde pela Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS) para o diagnóstico de crianças até 24 meses de idade, com suspeita de ALV, assistidas no Sistema Único de Saúde (SUS) ou pelos planos de saúde regulamentados (Brasil, 2022). O TPO deve ser realizado após melhora clínica com 2 a 4 semanas de uma dieta de exclusão do alimento suspeito (Kotchetkoff; De Oliveira; Sarni, 2023; Meyer et al., 2023). Consiste na oferta progressiva do alimento suspeito e/ou placebo, em intervalos regulares, sob supervisão médica ou multiprofissional (médico, nutricionista, enfermeiro e técnico de enfermagem) por no mínimo 2 horas, com suporte para atendimento de urgência. O TPO é de extrema relevância para a confirmação da ALV, bem como para avaliar a tolerância oral ao alimento suspeito, sendo necessário o consentimento livre e esclarecido dos responsáveis pela criança para a sua realização (SES, 2018; Calvani et al., 2019; Vandenplas et al., 2021).

O TPO pode ser tipo aberto, simples-cego e duplo-cego controlado por placebo. No TPO tipo aberto, a equipe de saúde e genitores sabem qual alimento será testado, sendo o teste mais utilizado por demandar menos tempo e custo, com uma maior confiabilidade nos primeiros anos de vida do paciente, pois em pacientes maiores os sintomas podem surgir por causas de fundo psicológico e não devido ao alimento em teste. No TPO simples-cego, apenas a equipe tem a informação do alimento que será testado, podendo também ser susceptível a vieses na interpretação do resultado. E o padrão-ouro dos TPOs para o diagnóstico da alergia alimentar é o duplo-cego, descrito e padronizado no consenso PRACTALL (2012). Neste tipo de TPO, a ocorrência de viés é mínima, pois nem o médico e nem os familiares sabem quando o alérgeno será ofertado. Contudo, o TPO duplo-cego é pouco utilizado na prática clínica devido à dificuldade na sua implementação, implicando em maiores custos operacionais e financeiros (Sampson et al., 2012; Calvani et al., 2019).

O diagnóstico da ALV não é simples e requer uma anamnese e uma história clínica aprofundadas, sendo os sintomas gastrointestinais os de maior ocorrência nas formas não IgE

mediadas, podendo ser confundida com outras doenças e transtornos gastrointestinais infantis, como regurgitações do lactente, cólicas do lactente, disquesia funcional ou constipação funcional. Diagnósticos errôneos podem expor a criança a riscos nutricionais inerentes à dieta de exclusão, como déficit no crescimento, deficiência de micronutrientes como iodo, ferro, cálcio, vitaminas B12 e D. Análise sanguínea das IgEs específicas e testes cutâneos podem auxiliar o diagnóstico, nos casos de ALV IgE-mediadas. A realização do teste de provocação oral é preconizada para um diagnóstico mais preciso da doença (Zepeda-Ortega et al., 2021; Vandenplas et al., 2021, 2023).

Os sintomas da ALV não IgE-mediada são amplos e inespecíficos, como regurgitações, vômito, choro persistente, irritabilidade, dificuldade alimentar, sangramento nas fezes, constipação intestinal, baixo ganho de peso, etc. Doenças como FPIAP (*Food Protein Induced Allergic Proctocolitis*/Proctocolite Alérgica Induzida por Proteína Alimentar), FPE (*Food Protein Induced Enteropathy*/Enteropatia Induzida por Proteína Alimentar) e a FPIES (*Food Protein Induced Enterocolitis Syndrome*/Síndrome da Enterocolite Induzida por Proteína Alimentar) são apresentações da ALV com gravidade de sintomas diversos (Vandenplas et al., 2021; Zepeda-Ortega et al., 2021).

O FPIAP é a manifestação mais frequente das três doenças e geralmente os lactentes apresentam-se em bom estado de saúde, sem déficit no crescimento e sem sintomas graves. É caracterizada por uma inflamação no cólon que gera hematoquezia nos lactentes e, em alguns casos, irritabilidade e recusa alimentar. No FPE, há acometimento do intestino delgado, apresentando vômitos e diarreia crônica com gordura nas fezes, podendo causar déficit no crescimento infantil por má absorção dos nutrientes. O FPIES é pouco frequente nas crianças em AME e sua forma aguda caracteriza-se pelo surgimento de vômitos recorrentes, letargia, palidez cutânea, hipotensão, hipotermia nas primeiras 4h após o consumo do alimento, e diarreia, que surge entre 5 a 10h após a ingestão do alérgeno. No FPIES crônica, há distensão abdominal, fezes diarreicas com sangue e/ou muco, vômitos intervalados, baixo ganho de ponderal e déficit de crescimento, podendo levar mais tempo para ser reconhecida e diagnosticada (Al-Iede et al., 2023). O FPIES possui sintomatologia grave, podendo acometer todo o sistema digestório, causando alterações metabólicas e até choque hipovolêmico (Calvani et al., 2019; Labrosse; Graham; Caubet, 2020; Vandenplas et al., 2021; Zepeda-Ortega et al., 2021).

A ALV mediada por IgE pode se apresentar por sintomas imediatos gastrointestinais, dérmicos, respiratórios e, inclusive, anafilaxia. Estudos sugerem que a persistência da ALV está relacionada a níveis mais elevados de IgE. Nesses casos, recomenda-se a realização do TPO quando a criança completar um ano de idade ou após 6 a 9 meses de exclusão dietética das proteínas do leite de vaca. As doenças gastrointestinais eosinofílicas (esofagite, gastrite e colite eosinofílicas) são manifestações da alergia alimentar mista (mediada e não mediada por IgE) onde há quantidade elevada de eosinófilos no sistema digestório (Labrosse; Graham; Caubet, 2020; Vandenplas et al., 2021).

Lactentes com ALV podem tolerar a presença da proteína do leite de vaca presente no leite materno, sendo necessário, em casos de reações por meio do leite materno, a adesão materna de dieta de exclusão do leite de vaca e derivados (Hossny et al., 2019; Vandenplas et al., 2021; Zepeda-Ortega et al., 2021; Lokossou et al., 2022).

Quando a prescrição de fórmulas se faz necessária, nos casos de produção reduzida de leite materno pela lactante, ou nos casos de manutenção dos sintomas alérgicos, apesar da dieta de exclusão materna, orienta-se o uso de fórmula extensamente hidrolisada para crianças com ALV com sintomas leves e moderados. Para casos mais graves, com história de anafilaxia, déficit no crescimento ou quando os sintomas persistem com a fórmula extensamente hidrolisada, a fórmula de aminoácidos é indicada. Fórmulas de soja podem ser indicadas para ALV IgE-mediada em crianças maiores de 6 meses de idade e não alérgicas à soja. Fórmulas hidrolisadas de arroz vêm sendo estudadas na prática clínica no tratamento da ALV e, quando equilibradas nutricionalmente, podem ser consideradas uma opção às fórmulas extensamente hidrolisadas. Entretanto, o último Consenso Nacional de Alergia Alimentar considera necessários mais estudos envolvendo o uso de fórmulas de arroz no manejo da ALV. As bebidas vegetais não são recomendadas para o tratamento da ALV em crianças por possuírem composição nutricional inadequada para uso como substituto do leite materno (Hossny et al., 2019; Vandenplas et al., 2021; Zepeda-Ortega et al., 2021).

As fórmulas de tratamento da ALV são de elevado custo, apesar de apresentarem nutrientes em quantidade considerada adequada para o lactente, não possuem os inúmeros benefícios biológicos e psicossociais do leite materno. Assim, o aleitamento materno deve ser incentivado, mesmo no contexto da alergia alimentar. Para tal, os profissionais de saúde devem estar capacitados para um atendimento humanizado, com orientações aos responsáveis pelas crianças com ALV sobre a importância da manutenção do aleitamento materno e sobretudo,

devem reconhecer os principais fatores que levam ao desmame do aleitamento materno na criança alérgica, visando intervenções efetivas para a permanência do aleitamento materno em crianças com ALV (Hossny et al., 2019; Vandenplas et al., 2021; Zepeda-Ortega et al., 2021).

2.3 Aleitamento materno em crianças com alergia ao leite de vaca

A alergia ao leite de vaca (LV) é pouco comum em bebês que são exclusivamente amamentados. Evidências recentes demonstram presença de pouca quantidade de proteínas do LV no leite humano que possam causar sintomas alérgicos e que essa quantidade de proteínas varia de mãe para mãe e independe da porção de LV ingerida (Gamirova et al., 2022; Mcwilliam et al., 2023).

As orientações atuais do DRACMA (2023) recomendam uma dieta materna de eliminação de LV por um período de duas a quatro semanas em três situações: quando a criança em AME for IgE mediada sintomática; quando for sintomática não-IgE mediada com uma evidente anamnese indicativa de ALV e; em casos de crianças com dermatite atópica moderada a grave sem respostas à corticoterapia. Após esse período, o LV deve ser reintroduzido na dieta materna em domicílio e observado recidiva de sintomas ou não (Mcwilliam et al., 2023).

Sintomas de ALV não-IgE medida como cólicas, refluxo gastroesofágico, constipação e choro intenso podem ser observados em bebês sem essa condição, o que pode levar a uma orientação equivocada de uma dieta isenta de LV. A equipe de saúde deve apoiar a continuidade da amamentação em crianças com suspeita ou diagnóstico de ALV e avaliar cautelosamente a orientação da dieta materna de eliminação de LV, a fim de evitar alterações imunológicas (redução nos níveis de anticorpos IgA e IgG4), nutricionais, bem como na qualidade de vida da mãe e do bebê. Devido a não ingestão de laticínios, essas mães podem apresentar níveis mais baixos de proteína, cálcio, fósforo, zinco, magnésio, vitaminas A, B2, B6, B12 e D, além de comprometer a microbiota intestinal pelo não consumo de probióticos oriundos dos fermentados lácteos (Solé et al., 2018; Brito et al., 2021; Mcwilliam et al., 2023).

Algumas barreiras podem surgir para as mães em dieta restritiva de lácteos, prejudicando a continuidade da amamentando. Uma delas é compreender os ingredientes descritos nos rótulos dos produtos industrializados. No Brasil, a rotulagem dos alimentos industrializados segue as normas da Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de

Vigilância Sanitária – ANVISA (RDC nº 727, de 1º de julho de 2022) a qual determina que as indústrias de alimentos identifiquem os principais ingredientes alergênicos nos rótulos dos seus produtos (GRANJA et al., 2023). Participar de eventos familiares e sociais pode gerar preocupação e ansiedade a lactante pela possibilidade de exposição fortuita a alimentos com LV (Kotchetkoff; De Oliveira; Sarni, 2023). Além disso, pode haver insegurança em continuar amamentando quando o bebê continua sintomático (McWilliam et al., 2023).

É essencial que os profissionais de saúde estabeleçam estratégias para o manejo dos sintomas das crianças com suspeita ou diagnóstico de ALV, com orientações sobre os padrões comportamentais dos bebês, sobre a importância da amamentação e de uma dieta materna balanceada, sem alterações indevidas na alimentação (Brito et al., 2021; McWilliam et al., 2023). Cabe ao enfermeiro, como membro da equipe de saúde, gerenciar o cuidado oferecendo uma assistência integral e humanizada, com ações educativas sobre AM e ALV para o binômio mãe-filho e seus familiares (Silva et al., 2020; Aquino et al., 2023).

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Analisar os fatores associados e as repercussões nutricionais do desmame em lactentes com alergia ao leite de vaca (ALV) assistidos no Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS).

Objetivos Específicos

1. Calcular as taxas de aleitamento materno em crianças alérgicas ao leite de vaca e em crianças não alérgicas;
2. Descrever os fatores associados ao desmame na perspectiva das mães de crianças alérgicas e não alérgicas;
3. Avaliar o estado nutricional das crianças em estudo;
4. Estimar as associações entre a amamentação e o estado nutricional das crianças em estudo;
5. Descrever os fatores associados ao desmame do leite materno em crianças alérgicas ao leite de vaca e em crianças não alérgicas.

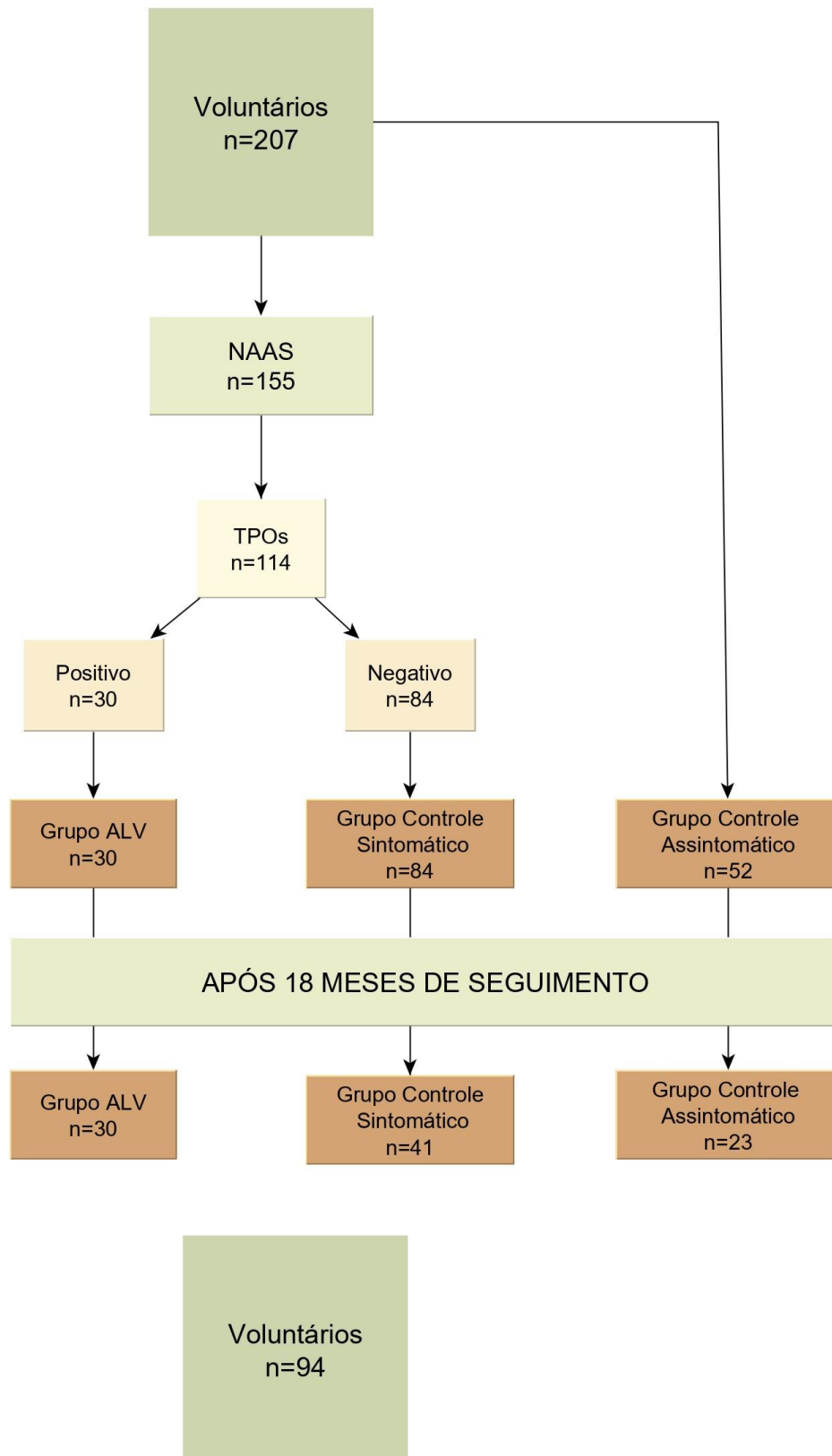
4. MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo realizado com uma população de crianças com alergia ao leite de vaca (ALV) e de crianças não alérgicas de uma pesquisa de coorte matriz que buscou avaliar a alimentação complementar e o comportamento alimentar de lactentes de baixa renda do estado de Sergipe/NE-Brasil, durante o período de 18 meses de seguimento, com idade entre zero a seis meses, recrutadas de fevereiro de 2019 a fevereiro de 2020, no Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS) da Universidade Federal de Sergipe, e em uma maternidade filantrópica e em um instituto de saúde estadual.

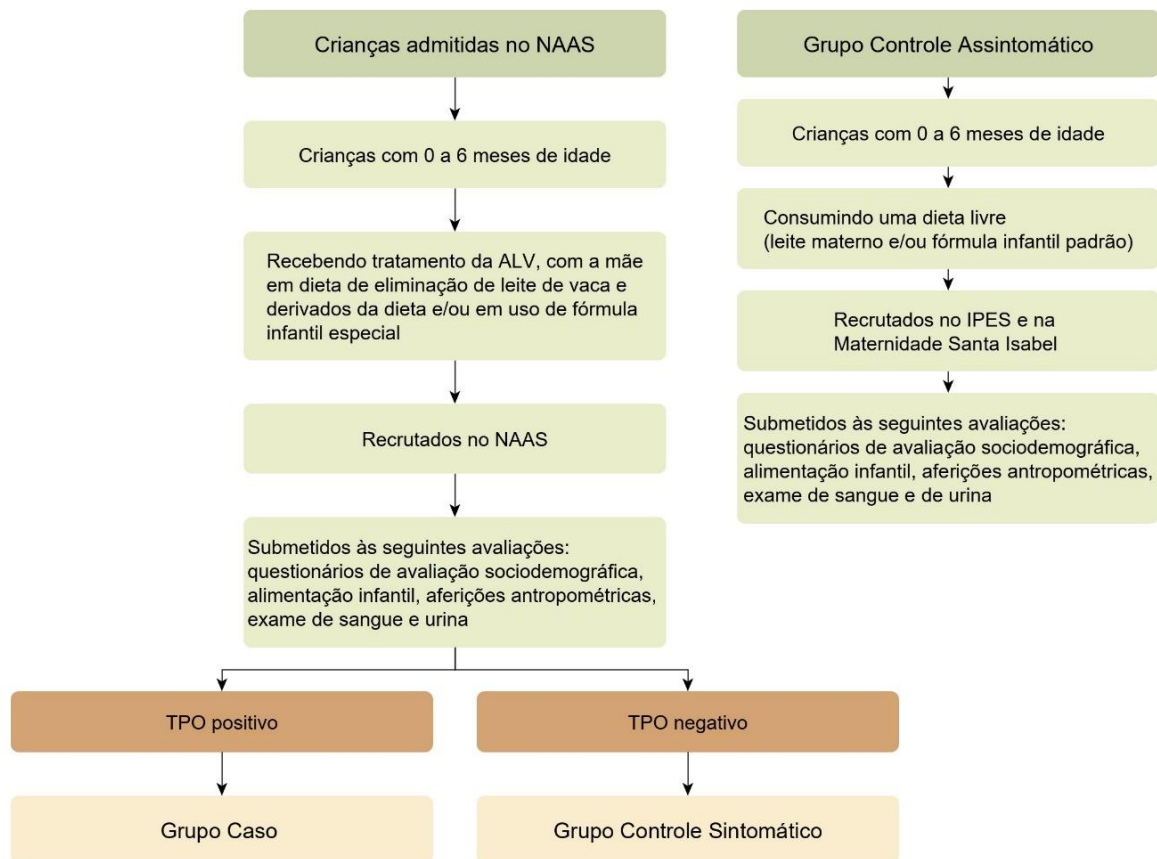
A população da referida pesquisa (figura 1) foi composta por 207 crianças, das quais 155 compuseram o grupo de crianças com suspeita de ALV e 52 o grupo assintomático (grupo controle assintomático - CA). O diagnóstico da ALV foi feito pela equipe médica do Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), da Universidade Federal de Sergipe (UFS), pela realização de Teste de Provocação Oral (TPO) nas crianças com suspeita de ALV, após 4 a 8 semanas de dieta de exclusão do leite de vaca. Das 155 crianças com suspeita de ALV, 41 foram excluídas devido a desistência dos pais em continuar na pesquisa ou devido ao não enquadramento nos critérios de inclusão (figura 2), resultando em 114 crianças com suspeita de ALV que realizaram o TPO. Lactentes em aleitamento materno foram submetidos a reintrodução do leite de vaca na dieta materna. Das 114 crianças, 30 apresentaram TPO positivo e foram alocadas no grupo ALV e as 84 crianças restantes, com TPO negativo, formaram o grupo controle sintomático (CS).

Figura 1- População do estudo na fase inicial e final da pesquisa.



Fonte: Figura do autor.

Figura 2 - Critérios de recrutamento da população do estudo.



Fonte: Figura do autor.

4.2 Campos de estudo

O Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), situado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (UFS), vinculado às Secretarias de Saúde Estadual de Sergipe e Municipal de Aracaju, é o serviço de referência do estado de Sergipe no atendimento multiprofissional (médicas, nutricionista, enfermeira e técnica de enfermagem) de crianças, com idade de zero a dois anos incompletos, com suspeita ou diagnóstico de ALV. O IPES é uma instituição estadual que presta assistência em saúde aos funcionários públicos municipais e estaduais associados. O Hospital e Maternidade Santa Isabel é uma associação de beneficência que realiza atendimentos materno-infantil e de cirurgia-geral. Os três campos de estudo localizam-se na cidade de Aracaju/SE.

4.3 População e amostra do estudo

A população do referido estudo foi a mesma do estudo matriz, exceto uma criança que foi excluída do grupo CA por não apresentar dados suficientes sobre aleitamento materno para a análise estatística, resultando nesse grupo ao final do seguimento em 23 crianças. A amostragem foi por conveniência e a estimativa do quantitativo de crianças foi baseada na estatística anual do NAAS de TPOs com resultados positivos.

Os critérios de inclusão foram crianças nascidas a termo (≥ 37 semanas de gestação), com idade entre zero e seis meses. As crianças sintomáticas (grupo ALV e CS) foram atendidas pelos pediatras, nutricionista e enfermeira do NAAS e as crianças assintomáticas (grupo CA) foram recrutadas no Instituto de Promoção e de Assistência à Saúde de Servidores do Estado de Sergipe (IPESAÚDE) e na Maternidade Santa Isabel foram atendidas pela enfermeira e nutricionista do NAAS, que também são as pesquisadoras do estudo.

Os critérios de exclusão para todas as crianças estudadas foram doença inflamatória intestinal, doença celíaca, fibrose cística, doença autoimune, anormalidades cromossômicas, atraso no desenvolvimento e outras doenças crônicas presumidas ou diagnosticadas.

4.4 Variáveis do estudo

As variáveis quantitativas coletadas foram: dados socioeconômicos e demográficos, idade de início e término da amamentação, tipo de aleitamento no início do estudo, uso de fórmulas infantis, dados antropométricos da criança no início e no final do estudo e dados bioquímicos de nutrientes no início e no final do estudo. As variáveis qualitativas foram os motivos do desmame na perspectiva materna.

4.5 Coleta de dados

Os dados foram coletados nos campos de estudos percorridos anteriormente pela equipe da pesquisa matriz, capacitada e composta por:

- Médicas do NAAS – realizavam atendimento às crianças encaminhadas ao NAAS com suspeita ou diagnóstico de ALV; aplicavam o TCLE para as crianças elegíveis; prescreviam a

dieta de exclusão de leite de vaca e derivados; aprazavam os TPOs e analisavam seus resultados; direcionavam as crianças elegíveis para a nutricionista e enfermeira do NAAS (figura 3);

- Nutricionista do NAAS/pesquisadora - coordenava a pesquisa; administrava o fluxo da coleta de dados da pesquisa matriz; atendia às crianças elegíveis encaminhadas pelas médicas, realizava as medidas antropométricas (anexo D), aplicava os questionários referentes a nutrição (anexo C e E) e encaminhava as crianças para a enfermeira; aprazava as datas de atendimento de retorno das crianças para o seguimento do estudo; inseria os dados coletados no banco de dados; (figura 4);

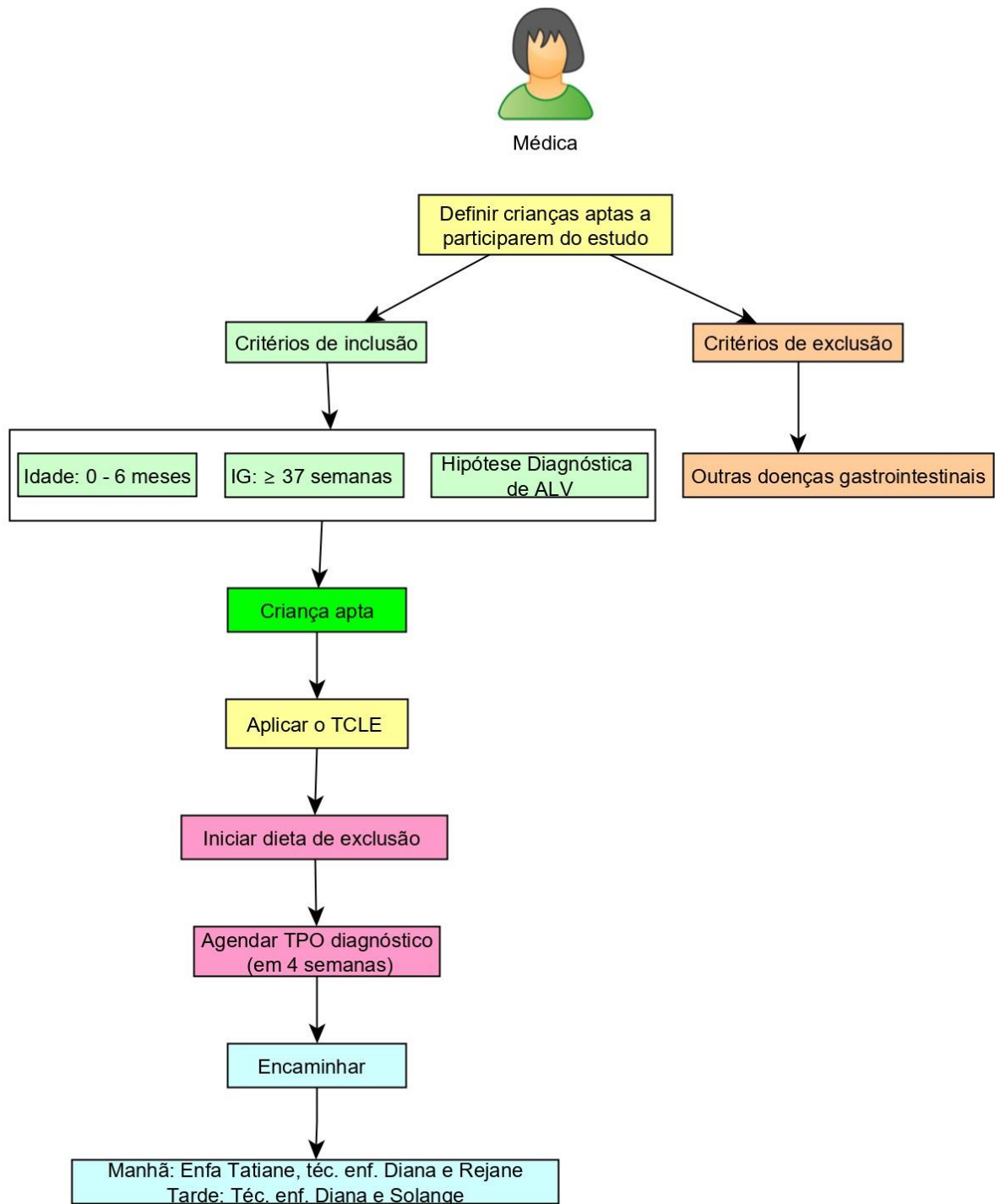
- Enfermeira do NAAS/pesquisadora – administrava o fluxo da coleta de dados da pesquisa matriz; realizava os TPOs prescritos pelas médicas; recebia as crianças encaminhadas pela nutricionista, aplicava os instrumentos direcionados para a enfermagem (anexo A, B e F); organizava os questionários em prontuários codificados por criança; orientava os pais sobre a coleta das amostras biológicas para a análise bioquímica; encaminhava a criança e os pais para a coleta de sangue no laboratório ou em sala adaptada; recebia as amostras biológicas, identificava, protocolava, armazenava e encaminhava para análise laboratorial no Hospital Universitário de Aracaju/SE (HU/SE) e em laboratório terceirizado; recolhia os resultados de exames no laboratório e via internet, realizava cópia e entregava o resultado original para os pais e a cópia anexava ao prontuário da criança participante; realizava contato telefônico para os pais da criança quando eles não compareciam para o seguimento do estudo ou em caso de amostras bioquímicas pendentes; inseria os dados coletados no banco de dados (figura 5);

- Técnicos em enfermagem do ambulatório do HU/SE – auxiliavam a enfermeira durante a coleta dos dados;

- Técnicos de laboratório do HU/SE e terceirizado – realizavam as venopunções nas crianças e a centrifugação das amostras;

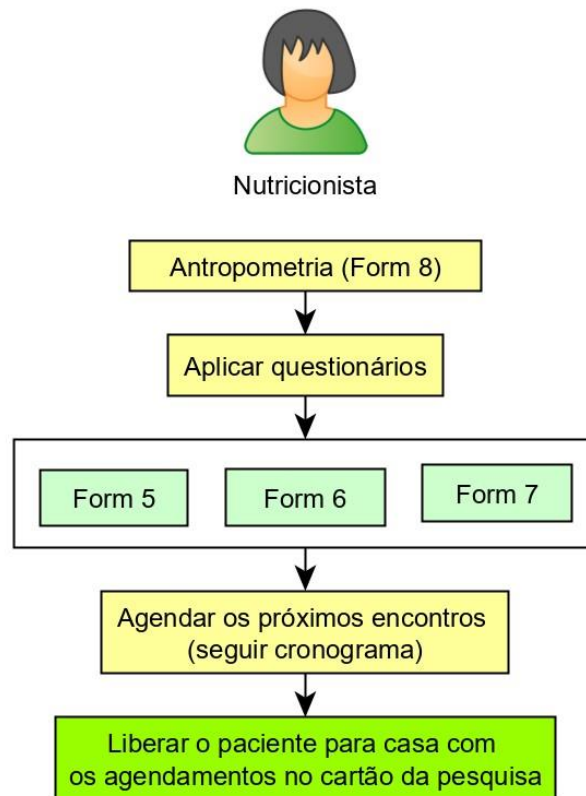
- Estudantes de enfermagem e nutrição - auxiliavam a enfermeira e a nutricionista durante a coleta dos dados.

Figura 3 – Fluxograma de coleta de dados - Médicas.



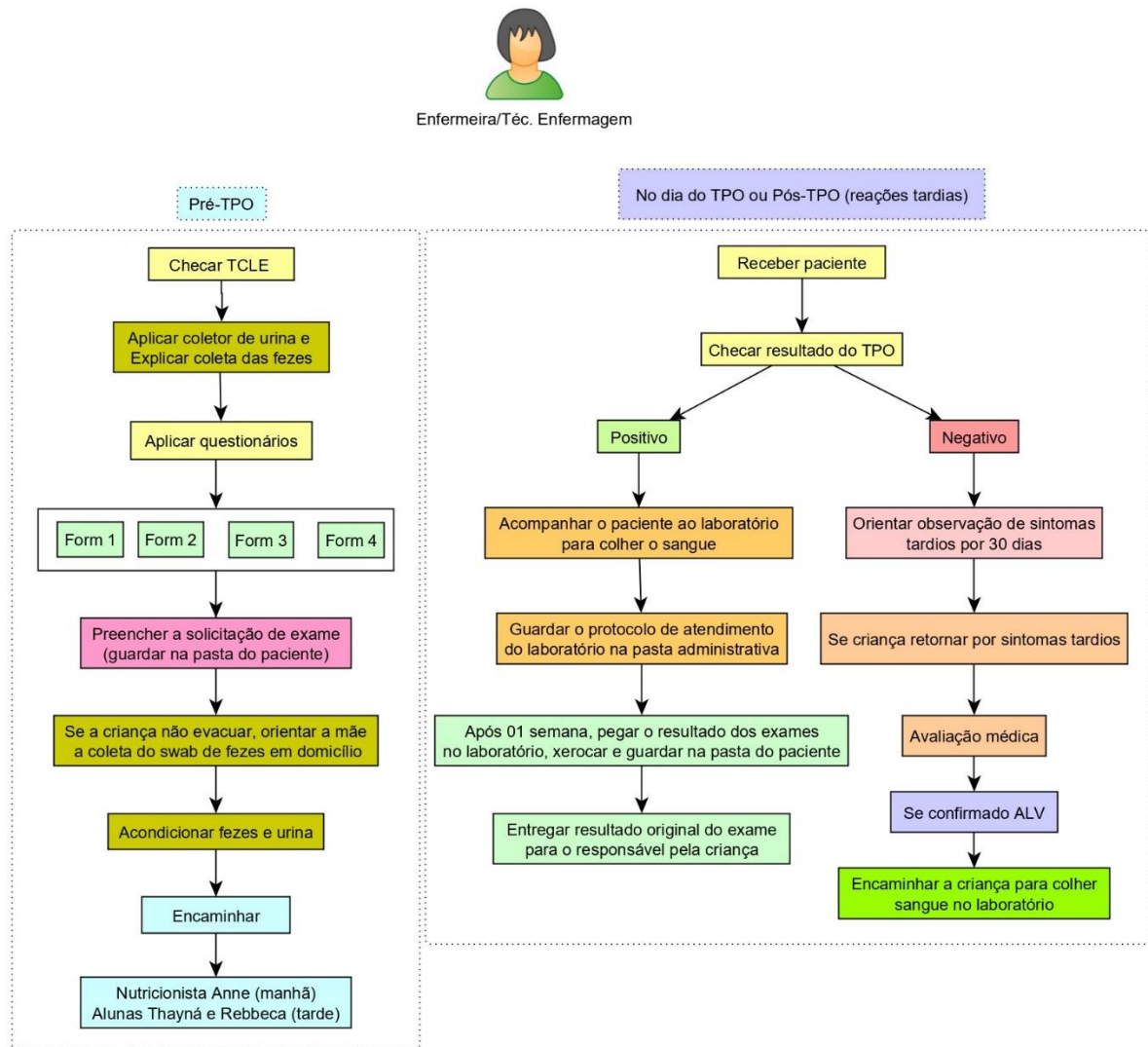
Fonte: Figura do autor.

Figura 4 - Fluxograma de coleta de dados - Nutricionista.



Fonte: Figura do autor.

Figura 5 – Fluxograma de coleta de dados - Enfermagem.



Fonte: Figura do autor.

As variáveis do estudo foram oriundas da pesquisa matriz, colhidas por intermédio de:

- a) Questionário estruturado (anexo A) – dados sociodemográficos, história familiar de alergia e da alimentação infantil (aleitamento materno, idade e motivos do desmame, uso de fórmulas infantis e oferta de alimentos complementares). Esse questionário foi aplicado pelos pesquisadores no momento do cadastro das crianças no estudo.
- b) Questionário de classificação do nível socioeconômico familiar no Brasil (anexo B) – nível socioeconômico da população pesquisada foi avaliado pelo Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Empresas de

Pesquisas, aplicado no cadastro da criança no estudo. O CCEB utiliza um sistema de pontos, no qual cada característica socioeconômica familiar tem uma pontuação específica e o somatório desses pontos indica a classe socioeconômica da família definida pela ABEP, sendo a classe A o nível socioeconômico mais favorecido e a classe E o nível menos favorecido. O estudo utilizou o modelo de questionário e o sistema de pontos disponíveis no site da ABEP (ABEP, 2018).

- c) Formulário de idade de introdução de alimentos complementares (anexo C) – utilizado para obter dados sobre a idade de inclusão, aleitamento materno e consumo de fórmula infantil. Foi aplicado no cadastro da criança no estudo, aos 6 e aos 9 meses de idade e ao final do estudo.
- d) Medidas antropométricas (anexo D) – foram aferidas medidas antropométricas de peso e de estatura das crianças, conforme protocolos padronizados (WHO, 2009; Brasil, 2011) no momento do cadastro e ao final do seguimento. O peso e a estatura de nascimento da criança foram colhidos da Caderneta de Saúde da Criança do Ministério da Saúde do Brasil. O peso da criança foi aferido em balança pediátrica digital com 5g de precisão (Welmy, São Paulo, Brasil), com a criança despida. A estatura da criança foi verificada em infantômetro com 0,1 cm de precisão (Avanutri, Três Rios, Brasil). Para a classificação antropométrica de estatura/idade (E/I), peso/estatura (P/E), peso/idade (P/I), IMC/idade (IMC/I), em escore-Z utilizou-se o programa WHO ANTHRO versão 2.0.2. As crianças foram classificadas com déficit de estatura se $E/I < -2$ escore-Z. Crianças com $P/I < -2$ escore-Z foram classificadas como baixo peso e com P/E e $IMC/I < -2$ escore-Z foram classificadas como magreza. Foi considerado excesso de peso quando P/I , P/E e IMC/I foram > 2 escore-Z (WHO, 2009).
- e) Coleta de sangue e de urina – exames bioquímicos foram realizados para a avaliação do estado nutricional de nutrientes no dia do TPO e no final da pesquisa. As análises laboratoriais foram feitas no laboratório do HU/UFS e em laboratório particular. Técnicos em laboratório coletaram o sangue das crianças no período entre 7h e 10h da manhã, por punção venosa, em tubos de gel separador de soro e ativador e em tubos sem e com coagulante EDTA para a obtenção do soro. Foi colhido o volume máximo de 10 ml de sangue de cada criança que estava em jejum de 4h. Uma fração do sangue sem coagulante foi analisado no mesmo dia em que foi coletado, em analisador hematológico automático *Cell-Dyn Rubi* para dosagem de hemoglobina, e índices hematimétricos. O sangue sem EDTA foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos para obtenção de soro.

A outra parte do soro foi encaminhada ao laboratório de bioquímica do HU/UFS para realizar a dosagem de proteínas totais, albumina e globulina séricas cálcio, ferro, fósforo, fosfatase alcalina, ferritina, proteína C reativa e 25-hidroxi-vitamina D [25(OH)D]. As amostras de soro foram pipetadas em alíquotas de 1ml e estocadas a -18°C para envio ao laboratório particular na mesma semana da coleta. O transporte foi realizado em gelo seco, seguindo os padrões de transporte da empresa. No laboratório particular foram dosadas a homocisteína total (tHcy), a vitamina B12 sérica, o ácido metilmalônico, a pré-albumina sérica e IgEs específicas para o leite de vaca e frações proteicas, quando se suspeitou de ALV IgE mediadas. Concentrações específicas de IgE para proteínas do leite de vaca foram avaliadas pelo método de imunoensaio fluoroenzimático ImmunoCAP e o ponto de corte foi $\geq 5,2$ KU/I conforme descrito por Franco et al (2018). Análise do iodo foi realizada por bioquímica urinária, pelo método de plasma acoplado indutivamente com espectrometria. A amostra da urina foi colhida em coletor urinário infantil, com captação mínima de 10 ml de urina, congelada a -18°C e transportada para laboratório particular para a análise do iodo urinário.

A coleta dos dados do estudo iniciou em fevereiro de 2019 e finalizou em março de 2021.

4.6 Análise dos dados

Os dados foram analisados no programa SPSS versão 22.0. Utilizaram-se os testes t de *Student*, Qui-quadrado de *Pearson*, *Mann-Whitney*, Exato de *Fisher* e Análise de Sobrevida como métodos para a análise comparativa das variáveis entre os três grupos do estudo. As respostas das mães sobre os fatores que motivaram o desmame do aleitamento foram separadas por grupos do estudo, tratadas para uniformização e em seguida foi solicitado a um analista de sistema para automatizar a contagem dessas respostas, sendo realizada por meio de um programa em linguagem de programação *Python*.

As variáveis categóricas (fatores associados ao desmame na perspectiva materna) foram descritas por meio de frequência absoluta e relativa. Foram estimadas curvas de sobrevida para permanência na amamentação por meio do método de *Kaplan-Meier*. A hipótese de igualdade de curvas de sobrevida para permanência na amamentação foi testada por meio do teste de *Gehan-Breslow (Wilcoxon Generalizado)*.

As variáveis contínuas (dados socioeconômicos e demográficos, idade de início e término da amamentação, tipo de aleitamento no início do estudo, uso de fórmulas infantis, dados antropométricos da criança no início do estudo e dados bioquímicos de nutrientes) foram descritas por meio de média, mediana, desvio padrão e intervalo interquartil. A hipótese de aderência das variáveis contínuas à distribuição normal foi testada por meio do teste de *Shapiro-Wilks*. Quando confirmada, a hipótese de igualdade de média entre duas amostras independentes foi avaliada por meio do teste de *t*, caso contrário, a hipótese de igualdade de medianas entre duas amostras independentes foi avaliada por meio do teste de *Mann-Whitney*.

Para avaliar os fatores associados ao tempo de amamentação foram estimados modelos de regressão linear e estimados coeficientes de regressão brutos e ajustados para os grupos do estudo e variáveis relevantes. Além disso, nas múltiplas comparações para proporções foi empregado o teste Z de *Bonferroni*. O teste de *Shapiro-Wilk* é um teste estatístico utilizado para verificar se os dados seguem uma distribuição normal. Sendo assim, O teste de *Kruskal-Wallis* e *Dunn* foram empregados para comparar as medianas de três amostras independentes e nas múltiplas comparações respectivamente em situações em que os dados não atendiam aos pressupostos da distribuição normal e da homogeneidade de variâncias. O software utilizado foi o *R Core Team* 2022 (Versão 4.1.2) e o nível de significância adotado em todo estudo foi de 5%.

4.7 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (CAAE 97662918.0.0000.5546) e respeitou os princípios éticos da pesquisa com seres humanos, conforme Resolução no 466 da Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 (Brasil, 2011). Foram assegurados a confidencialidade dos participantes da pesquisa que puderam optar pela participação voluntária no estudo, com a concordância por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido - TCLE (anexo F), no qual pode abster-se de participar da pesquisa a qualquer tempo. Os responsáveis pelas crianças elegíveis foram esclarecidos verbalmente sobre os objetivos, riscos e benefícios em participar do estudo. Cada voluntário recebeu um código de identificação para resguardo de suas identificações.

Os participantes foram informados dos benefícios resultantes da pesquisa que incluíram assistência de enfermagem, nutricional e médica. Os responsáveis foram orientados sobre eventuais carências nutricionais pela nutricionista do estudo. Dúvidas e problemas relacionados à pesquisa foram sanados pela equipe.

A pesquisa gerou riscos mínimos à criança e a seus responsáveis, como o desconforto da criança diante do profissional de saúde, por ser uma pessoa desconhecida e o incômodo durante a coleta de sangue. Tais riscos foram amenizados por uma assistência humanizada e por um ambiente acolhedor e agradável durante o atendimento.

5. RESULTADOS

Das 207 crianças incluídas inicialmente no estudo, 155 compuseram o grupo caso (crianças com suspeita de ALV) e 52 crianças integraram o grupo CA. Das crianças do grupo caso, 114 (73,5%) realizaram o Teste de Provocação Oral (TPO), destas, 30 (26,3%) apresentaram TPO positivo e foram alocadas no grupo ALV e as 84 (73,7%) crianças remanescentes com TPO negativo compuseram o grupo CS.

Devido à pandemia de Covid-19, houve uma perda amostral durante o seguimento nos grupos CS e CA por desistência voluntária e abandono dos pais, não retornando ao local da pesquisa e não respondendo aos contatos telefônicos dos pesquisadores. Os pais justificaram a desistência em continuar na pesquisa devido a pandemia do Covid-19, da mudança de residência para outro estado, da melhora do quadro clínico da criança e da alta do Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe. No final do seguimento de 18 meses o total da amostra foi de 94 voluntários. O grupo ALV permaneceu com 30 (32%) participantes, o grupo CS totalizou 41 (44%) e o grupo CA, 23 (24%) crianças. No grupo ALV, 90% das crianças apresentaram sintomas gastrointestinais.

Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas na idade, sexo, tipo de alimentação infantil, nível socioeconômicos e parâmetros antropométricos no início do estudo entre as crianças que mantiveram e as que perderam o seguimento ($p>0,05$).

Do total de crianças avaliadas, 2 (2,1%) apresentaram baixa estatura ($E/I < -2$) e 3 (3,2%) ($P/I > 2$) peso elevado para a idade no início do estudo. A média geral de idade no estudo dos três grupos de crianças foi de 2,9 meses, sendo o grupo CS com a maior média de idade 3,57 meses, seguido pelo grupo ALV 2,85 meses e o CA 2,47 meses. Com relação ao nível socioeconômico, 40 (42,1%) famílias possuíam baixa-média renda, conforme critério da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP), sem diferença estatística entre os grupos ($p=0,372$). O grupo CS foi o grupo com menores taxas de AM (34,1%) na admissão no NAAS, com maior quantidade de crianças que recebeu fórmula na maternidade (43,9%), que estava em uso de chupeta (70%) e que iniciou a oferta da alimentação complementar primeiro (com 120 dias de vida da criança). As características da amostra por grupo de estudo estão descritas nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1– Características gerais e socioeconômicas por grupo de estudo.

	ALV (n=30/31,9%)	CS (n=41/42,7%)	CA (n=23/24,5%)	valor-p
Idade em mês, Mediana [IIQ]	2,85 [2,27;4,47]	3,57 [2,57;4,47]	2,47 [0,83-4,03]	0,087 ^K
Idade em dias, Mediana [IIQ]	85,5 [68;134]	107 [77;134]	74 [25-121]	0,087 ^K
Tipo de Parto, n (%)				
cesárea	24 (80)	31 (75,6)	12 (52,2)	0,066 ^Q
normal	6 (20)	10 (24,4)	11 (47,8)	
Sexo, n (%)				
masculino	17 (56,7)	18 (43,9)	12 (52,2)	0,560 ^Q
feminino	13 (43,3)	23 (56,1)	11 (47,8)	
Idade da mãe, Mediana [IIQ]	31 [24;33]	30 [27;32]	24 [20;34,5]	0,259 ^K
Número de irmãos, Mediana [IIQ]	1 [0;1]	1 [0;1]	0 [0;1]	0,228 ^K
Ordem de nascimento, n (%)				
primeiro filho	14 (46,7)	19 (46,3)	15 (65,2)	0,691 ^Q
segundo filho	8 (26,7)	15 (36,6)	6 (26,1)	
terceiro filho	3 (10)	2 (4,9)	1 (4,3)	
quarto filho	3 (10)	2 (4,9)	1 (4,3)	
quinto filho	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	
sexto filho	1 (3,3)	3 (7,3)	0 (0)	
Escolaridade materna, n (%)				
analfabeto/fundamental I incompleto	3 (10)	4 (9,8)	2 (8,7)	0,102 ^Q
fundamental I completo/fundamental II incompleto	2 (6,7)	1 (2,4)	0 (0)	
fundamental completo/médio incompleto	3 (10)	8 (19,5)	1 (4,3)	
médio completo/superior incompleto	9 (30)	15 (36,6)	16 (69,6)	
superior completo	13 (43,3)	13 (31,7)	4 (17,4)	
Nível socioeconômico por classe, n (%)				
D-E	9 (30)	12 (29,3)	6 (26,1)	0,372 ^Q
C	8 (26,7)	20 (48,8)	12 (52,5)	
B	12 (40)	8 (19,5)	4 (17,4)	
A	1 (3,3)	1 (2,4)	1 (4,3)	
Nível socioeconômico, Mediana [IIQ]	25,5 [15;33]	21 [16;27]	23 [16,5;28]	0,686 ^K

Legenda: ALV - grupo com alergia ao leite de vaca. CS - grupo controle sintomático. CA - grupo controle assintomático. n – frequência absoluta. % – frequência relativa percentual. IIQ – Intervalo Interquartil. K – Teste de Kruskal-Wallis. Q – Teste Qui-Quadrado de Pearson. ^{a,b,c} Subgrupos distintos ao nível de 5% para os testes Z de Bonferroni (proporções) ou Dunn (medianas).

Tabela 2 – Tipo de aleitamento, uso de chupeta e idade de início da alimentação complementar por grupo de estudo.

	ALV (n=30/31,9%)	CS (n=41/42,7%)	CA (n=23/24,5%)	valor-p
Uso de fórmula na maternidade, n (%)				
sim	11 (37,9)	18 (43,9)	5 (21,7)	0,204 ^Q
não	18 (62,1)	23 (56,1)	18 (78,3)	
Uso de chupeta, n (%)				
sim	15 (50) ^{a,b}	28 (70) ^b	8 (36,4) ^a	0,030^Q
não	15 (50)	12 (30)	14 (63,6)	
Início do uso da chupeta (dia), Mediana [IIQ]	3 [1;15]	4 [1;37,5]	30 [10,5;60]	0,127 ^K
Alimento em uso na admissão, n (%)				
leite materno	15 (50) ^{a,b}	14 (34,1) ^b	16 (69,6) ^a	0,005^Q
fórmula infantil (LV, soja, FEH)	3 (10)	7 (17,1)	2 (8,7)	
fórmula tratamento (FEH, FAA e FA)	5 (16,7) ^{a,b}	16 (39) ^b	0 (0) ^a	
leite materno e fórmula infantil (LV, soja, FEH)	2 (6,7)	3 (7,3)	4 (17,4)	
leite materno e tratamento	3 (10)	1 (2,4)	0 (0)	
Idade de oferta do primeiro alimento (dias), Mediana [IIQ]	150 [75;150] ^{a,b}	120 [60;162,5] ^a	180 [150;180] ^b	0,015^K

Legenda ALV - grupo com alergia ao leite de vaca. CS - grupo controle sintomático. CA - grupo controle assintomático.: n – frequência absoluta. % – frequência relativa percentual. IIQ – Intervalo Interquartil. K – Teste de Kruskal-Wallis. Q – Teste Qui-Quadrado de Pearson. ^{a,b,c} Subgrupos distintos ao nível de 5% para os testes Z de Bonferroni (proporções) ou Dunn (medianas). LV – Leite de vaca. FEH – Fórmula extensamente hidrolisada. FAA – Fórmula de aminoácidos. FA – Fórmula de arroz.

5.1 Taxas e tempo de aleitamento materno

No início do estudo, 70 (74,4%) crianças estavam em aleitamento materno e 33 (35,1%) crianças estavam em aleitamento materno exclusivo. As crianças do grupo controle assintomático apresentaram maiores taxas e tempo de aleitamento materno exclusivo. Dezesesseis (69,6%) crianças do grupo controle assintomático mamavam exclusivamente até o momento da primeira avaliação, enquanto 10 (33,3%) do grupo ALV e 7 (17,1%) crianças do grupo controle sintomático mantinham a amamentação exclusiva nesse momento ($p=0,005$) (tabela 3). Ao final do estudo 51 (54,2%) lactantes continuavam a amamentar seus filhos, das quais 18 (78,3%) eram do grupo CA, 17 (56,7%) do grupo ALV e 16 (39,0%) do grupo CS ($p=0,009$) (tabela 4).

Tabela 3 - Tempo de aleitamento materno exclusivo no início da pesquisa por grupo de estudo.

	Grupo ALV n (%)	Grupo CS n (%)	Grupo CA n (%)	Valor-p
Nunca	6 (20)	10 (24,4)	1 (4,3)	0,005
≤ 1 mês	9 (30)	13 (31,7)	1 (4,3)	
2 a 3 meses	2 (6,7)	11 (26,8)	3 (13)	
4 a 6 meses	3 (10)	0	0	
Mantém AME	10 (33,3)	7 (17,1)	16 (69,6)	
Sem resposta	0	0	2 (8,7)	

Legenda: AME: aleitamento materno exclusivo; ALV: grupo com alergia ao leite de vaca; CS: grupo controle sintomático; CA: grupo controle assintomático.

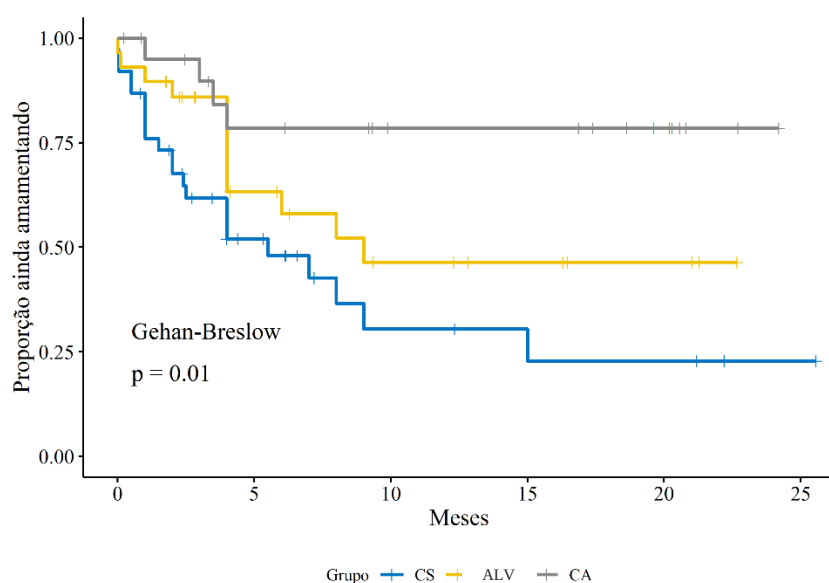
Tabela 4 - Prevalência de aleitamento materno no início e ao final do seguimento.

	ALV (n=30/31,9%)	CS (n=41/42,7%)	CA (n=23/24,5%)	valor-p
Tempo total de amamentação, Mediana [IIQ]	120 [71;281] ^{a,b}	112 [30;197] ^a	288,5 [100;606] ^b	0,022 ^K
Leite materno no início do estudo, n (%)				
sim	25 (86,2) ^{a,b}	25 (61) ^b	20 (90,9) ^a	0,022 ^Q
não	4 (13,8)	16 (39)	2 (9,1)	
Mantém leite materno no final do seguimento, n (%)				
Sim	17 (56,7) ^{a,b}	16 (39) ^b	18 (78,3) ^a	0,009 ^Q
Não	13 (43,3)	25 (61)	5 (21,7)	
Tempo de AME, Mediana [IIQ]	419 [152;587]	244,5 [139,5;482,5]	495,5 [153;540]	0,291 ^K

Legenda: ALV: grupo com alergia ao leite de vaca; CS: grupo controle sintomático; CA: grupo controle assintomático. AME: aleitamento materno exclusivo. n: frequência absoluta. %: frequência relativa percentual. IIQ: Intervalo Interquartil. K: Teste de Kruskal-Wallis. Q: Teste Qui-Quadrado de Pearson. ^{a,b,c}: Subgrupos distintos ao nível de 5% para os testes Z de Bonferroni (proporções) ou Dunn (medianas).

A análise de sobrevida ilustra a curva do tempo de aleitamento materno ao longo do seguimento (figura 6). O grupo ALV apresentou um desenho na curva de proporção de AM semelhante ao grupo CS, demonstrando queda na continuidade do aleitamento aos 4 meses de seguimento e mantendo a curva em declínio até por volta dos 10 meses de seguimento, quando, então a curva se estabiliza.

Figura 6: Curva de sobrevida do tempo de aleitamento materno por grupo de crianças.



Legenda: CS: grupo controle sintomático; ALV: grupo com alergia ao leite de vaca; CA: grupo controle assintomático.

5.2 Causas de desmame na perspectiva materna e fatores associados ao tempo de aleitamento materno

As causas do desmame relatadas pelas mães estão descritas na tabela 5. As respostas mais frequentes no grupo ALV foram a dificuldade em continuar amamentando seguindo a dieta de exclusão do leite de vaca e derivados (30%) e, com taxas iguais (20%), os sintomas alérgicos na criança e o ingurgitamento mamário. No grupo CS, a produção insuficiente de LM e a recusa da criança em mamar predominaram em igual percentagem (20%), bem como a dieta de exclusão de lácteos (10%) e os sintomas apresentados pela criança (10%). Apenas uma genitora do grupo CA tinha desmamado, informando que a criança recusou o LM.

Tabela 5 - Causas de desmame do leite materno na perspectiva materna.

	ALV n (%)	CS n (%)	CA n (%)
Sem resposta	1 (10)	3 (15)	0 (0)
Relacionadas à mãe			
Mastite	0 (0)	1 (5)	0 (0)
Ingurgitamento mamário	2 (20)	1 (5)	0 (0)
Fissuras mamárias	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mamilo materno invertido	0 (0)	1 (5)	0 (0)
Dieta de exclusão	3 (30)	2 (10)	0 (0)
Hospitalização da puérpera	1 (10)	0 (0)	0 (0)
Produção insuficiente de LM	1 (10)	4 (20)	0 (0)
Retorno da genitora ao trabalho	0 (0)	1 (5)	0 (0)
Deficiência nutricional materna	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Relacionadas à criança			
Reações alérgicas	2 (20)	2 (10)	0 (0)
Recusa do LM pela criança	0 (0)	4 (20)	1 (100)
Baixo peso da criança	0 (0)	1 (5)	0 (0)
Dificuldade na sucção	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Legenda: ALV: grupo com alergia ao leite de vaca; CS: grupo controle sintomático; CA: grupo controle assintomático; n – frequência absoluta. % – frequência relativa percentual; LM: leite materno.

Na análise de regressão linear para verificar os principais fatores associados ao tempo de aleitamento materno (tabela 6), observou-se que crianças que utilizaram copinho como via de oferta de fórmula infantil passaram aproximadamente 279 dias a mais em aleitamento materno comparado a crianças que utilizaram mamadeira ($p=0,029$), na análise ajustada, com resultado expressivo do beta padronizado ($B^{std}=1,38$). Crianças de famílias com melhores condições socioeconômicas desmamaram mais cedo na análise não ajustada ($p=0,016$), perdendo essa associação na análise ajustada. A presença de ALV ou sintomas gastrointestinais não-alérgicos não foram associados ao tempo de aleitamento materno.

Tabela 6 - Fatores associados ao tempo de aleitamento materno em lactentes com e sem alergia ao leite de vaca; associações não ajustadas e ajustadas.

	Não ajustado					Ajustado				
	IC95%					IC95%				
	B	Inf	Sup	p	B ^{std}	B	Inf	Sup	p	B ^{std}
GRUPO_FINAL:										
ALV – CA	-20,60	-153,00	111,80	0,757	-0,10	22,68	-123,45	168,82	0,757	0,11
CS – CA	-91,00	-214,00	32,40	0,146	-0,45	-42,64	-194,36	109,07	0,575	-0,21
Parto:										
normal – cesárea	87,40	-18,50	193,00	0,104	0,43	74,36	-54,28	203,00	0,251	0,37
Idade da mãe	-4,04	-11,50	3,46	0,286	-0,13	1,93	-7,61	11,48	0,686	0,06
Número de irmãos	1,20	-79,70	82,10	0,976	0,00	-125,62	-308,47	57,23	0,174	-0,36
Ordem de nascimento	10,90	-27,50	49,20	0,574	0,07	55,33	-33,71	144,37	0,218	0,32
Via de oferta da fórmula infantil:										
Copinho – Mamadeira	239,00	2,84	475,00	0,047	1,18	278,97	29,44	528,50	0,029	1,38
Sonda orogástrica – Mamadeira	-181,70	-581,92	219,00	0,368	-0,90	-66,35	-477,86	345,17	0,747	-0,33
Mamadeira e Copinho – Mamadeira	160,30	-239,92	561,00	0,427	0,79	159,46	-261,23	580,16	0,450	0,79
Ausente – Mamadeira	83,80	-21,16	189,00	0,116	0,41	82,01	-50,51	214,53	0,220	0,40
Uso de chupeta:										
não – sim	32,50	-67,20	132,00	0,517	0,16	54,53	-57,40	166,45	0,333	0,27
Escolaridade materna:										
fundamental I completo/fundamental II incompleto – analfabeto/fundamental I incompleto	-5,12	-313,20	302,90	0,974	-0,03	-12,38	-349,38	324,61	0,941	-0,06
fundamental completo/médio incompleto – analfabeto/fundamental I incompleto	133,78	-51,10	318,60	0,153	0,66	167,46	-46,34	381,26	0,122	0,83
médio completo/superior incompleto – analfabeto/fundamental I incompleto	45,55	-110,10	201,20	0,561	0,22	48,78	-132,64	230,20	0,592	0,24
superior completo – analfabeto/fundamental I incompleto	-82,39	-244,30	79,50	0,313	-0,41	-44,73	-288,87	199,41	0,714	-0,22
Nível socioeconômico	-6,08	-11,00	-1,16	0,016	-0,29	-2,89	-10,89	5,11	0,472	-0,14
Peso/idade	-4,21	-44,00	35,60	0,834	-0,03	-21,48	-65,02	22,06	0,327	-0,13

Legenda: ALV: grupo com alergia ao leite de vaca; CS: grupo controle sintomático; CA: grupo controle assintomático; LM: leite materno; B – coeficiente de regressão. IC95% - Intervalo com 95% de confiança. Inf – Limite inferior. Sup – Limite superior. B^{std} – coeficiente de regressão padronizado. Modelo Ajustado: R²: 0,354. R² ajustado: 0,134. RMSE: 162. Shapiro-Wilk: p=0,119. Breusch-Pagan: p=0,303. Durbin-Watson: p=0,900. VIF: 1,12-2,38.

5.3 Repercussões do desmame na nutrição das crianças

No início do estudo, as crianças do grupo CA apresentaram concentrações séricas de vitamina B12 inferior aos outros grupos de crianças, sendo o valor médio abaixo dos valores de referência (144,46; $p=0,002$). No final do seguimento, foi observado uma queda na concentração sérica de ácido fólico ($p<0,001$) e uma elevação nos níveis de homocisteína ($p=0,001$) no grupo CA, porém mantendo-se dentro dos valores de normalidade. Não houve alterações significativas nos demais biomarcadores nos grupos de crianças em estudo (tabela 7).

Tabela 7 - Mediana dos índices antropométricos e dos biomarcadores em crianças com ALV e dos grupos controle sintomático e assintomático no início e final do estudo.

Mediana [IIQ]	ALV (n=30/31,9%)	CS (n=41/42,7%)	CA (n=23/24,5%)	valor-p
Idade da criança no dia do exame	5,45 [3,37;5,95] ^a	4,94 [3,52;5,67] ^a	3,32 [1,2;4,5] ^b	0,003 ^K
E/I inicial	-0,66 [-1,53;0]	-0,44 [-1,09;0,2]	-0,74 [-1,18;0,29]	0,558 ^K
E/I final	0,47 [-0,63;1,16]	-0,27 [-0,7;0,55]	-0,8 [-1,27;-0,3]	0,160 ^K
P/I inicial	-0,52 [-1;0,4]	-0,01 [-0,56;0,75]	-0,07 [-0,53;0,75]	0,119 ^K
P/I final	0,51 [-0,21;1,53]	0,36 [-0,68;0,94]	-0,48 [-0,69;0,38]	0,393 ^K
Hb inicial (g/dL)	11,15 [10,9;11,55]	11,5 [10,65;11,7]	11,25 [10,4;12,4]	0,705 ^K
Hb final (g/dL)	12,3 [12;13,1]	12,3 [12;12,6]	12,6 [12,2;12,8]	0,672 ^K
Cálcio sérico inicial (mg/dL)	10,75 [10,45;11,65]	10,9 [10,4;11,1]	10,8 [10,5;10,9]	0,842 ^K
Cálcio sérico final (mg/dL)	10,2 [10,1;11,1]	10,4 [10;10,8]	10,6 [10,4;10,7]	0,343 ^K
FA inicial (U/L)	832,5 [726,5;929]	798 [625,5;915,5]	804 [668;1016]	0,606 ^K
FA final (U/L)	705 [680;865]	698 [613;842]	743 [639;822,5]	0,789 ^K
Fósforo sérico inicial (mg/dL)	6,2 [5,9;6,4]	6,4 [6,2;6,85]	6,45 [6,1;7,4]	0,067 ^K
Fósforo sérico final (mg/dL)	5,7 [5,5;6,2]	6 [5,7;6,4]	5,8 [5,45;6,1]	0,647 ^K
Magnésio sérico inicial (mg/dL)	2,4 [2,3;2,5]	2,4 [2,2;2,5]	2,4 [2,3;2,4]	0,537 ^K
Magnésio sérico final (mg/dL)	2,2 [2,1;2,4]	2,3 [2,3;2,4]	2,3 [2,2;2,3]	0,071 ^K
PCR inicial (mg/dL)	0,5 [0,4;1]	0,5 [0,2;0,7]	0,35 [0,1;0,7]	0,190 ^K
PCR final (mg/dL)	0,6 [0,5;1,1]	0,55 [0,4;0,9]	0,5 [0,4;1]	0,669 ^K
Albumina inicial (g/dL)	4,3 [4,2;4,45] ^a	4,4 [4,2;4,5] ^a	4,2 [4,4;3] ^b	0,015 ^K
Albumina final (g/dL)	4,4 [4,4;4,5]	4,5 [4,3;4,7]	4,6 [4,45;4,6]	0,417 ^K
Iodo urinário inicial (µg)	197,97 [116,83;245,05]	187,39 [132,83;314,43]	305,32 [198,22;407,25]	0,036 ^K
Iodo urinário final (µg)	354,14 [221,06;483,08]	390,83 [175,81;395,34]		0,254 ^K
Pré-Albumina inicial (mg/dL)	15,8 [11,6;17,05]	18,45 [13,4;20]	15,35 [13,4;17,6]	0,113 ^K
Pré-albumina final (mg/dL)	20,5 [17,8;21,1]	19,7 [18,05;21,65]	18,95 [17;20,3]	0,861 ^K
Ácido fólico inicial (ng/mL)	23,9 [17,96;24,8]	24,8 [18,67;24,8]	22,3 [15,99;24,8]	0,536 ^K
Ácido fólico final (ng/mL)	24,8 [20;24,8] ^{a,b}	24,8 [24,8;24,8] ^a	18,47 [17,59;21,72] ^b	0,000 ^K
Homocisteína inicial (µmol/L)	6,23 [4,9;7,88] ^{a,b}	6,23 [5,03;7,58] ^a	7,9 [5,91;10,6] ^b	0,041 ^K
Homocisteína final (µmol/L)	4,29 [3,65;5,27] ^a	4,02 [3,54;4,76] ^a	7,18 [5,17;8,73] ^b	0,001 ^K
Ác. metilmalônico inicial (µmol/L)	0,22 [0,16;0,42] ^a	0,27 [0,17;0,83] ^{a,b}	0,47 [0,32;0,84] ^b	0,017 ^K
Ác. metilmalônico final (µmol/L)	0 [0;0,14]	0,14 [0;0,25]	0,22 [0,17;0,31]	0,072 ^K
Ferritina inicial (ng/mL)	27,65 [20,4;74,25] ^a	29,6 [12,8;64] ^a	72,7 [35,5;126,5] ^b	0,010 ^K
Ferritina final (ng/mL)	23 [15,7;32,2]	22,75 [15,6;33,2]	17,7 [12,15;23,65]	0,401 ^K
Vitamina D inicial (nmol/L)	54,15 [47,95;67,25]	56,3 [43,3;66,9]	45,75 [37,6;62,4]	0,312 ^K
Vitamina D final (nmol/L)	49,2 [45,4;71]	50 [46,8;66]	51,1 [40,5;63,05]	0,797 ^K

<i>Mediana [IIQ]</i>	ALV (n=30/31,9%)	CS (n=41/42,7%)	CA (n=23/24,5%)	valor-p
vitB12 inicial (pmol/L)	353,94 [199,14;452,96] ^a	319,21 [208,37;430,05] ^a	144,46 [118,97;250,49] ^b	0,002^K
vitB12 final (pmol/L)	283,74 [189,9;342,12]	278,2 [192,86;431,53]	221,68 [162,93;284,85]	0,319 ^K

Legenda: n – frequência absoluta. % – frequência relativa percentual. IIQ – Intervalo Interquartil. K – Teste de Kruskal-Wallis. Q – Teste Qui-Quadrado de Pearson. ^{a,b,c} Subgrupos distintos ao nível de 5% para os testes Z de Bonferroni (proporções) ou Dunn (medianas). ALV – grupo com alergia ao leite de vaca. CS – grupo controle sintomático. CA – grupo controle assintomático. E/I – Estatura/Idade. P/I – Peso/Idade. Hb – hemoglobina. FA – Fosfatase Alcalina. PCR – Proteína C Reativa. Ác. metilmalônico – Ácido metilmalônico. vitB12 – Vitamina B12.

A análise de associação entre o aleitamento materno, antropometria e biomarcadores demonstrou menores concentrações séricas da vitamina B12 nas crianças amamentadas em relação às crianças desmamadas, tanto no início (203,84; $p>0,001$) quanto no final do estudo (212,81; $p<0,001$) (tabela 8). Nenhuma criança em estudo fazia uso prolongado (> 3 meses) de inibidores de secreção gástrica.

Tanto no início quanto no final do estudo, a média da homocisteína (8,30/6,65; $p<0,001$) e do ácido metilmalônico (1,04/0,27; $p=0,009/0,004$) séricos foram mais elevados nas crianças amamentadas. No início do estudo, as crianças desmamadas apresentaram concentrações séricas da pré-albumina (17,12; $p=0,049$) significativamente maior em relação às crianças em aleitamento materno (tabela 8). Não foram observadas diferenças significativas entre as crianças desmamadas e as que permaneceram no aleitamento materno nos parâmetros nutricionais avaliados.

Tabela 8 – Associação entre aleitamento materno e parâmetros nutricionais no início e no final do estudo.

	Amamentação				p-valor
	Presente		Ausente		
	Média (DP)	Mediana (IIQ)	Média (DP)	Mediana (IIQ)	
P/I inicial	0,22 (1,91)	-0,07 (-0,58;0,67)	-0,29 (0,99)	-0,26 (-0,97;0,36)	0,157 ^W
P/I final	0,34 (1,17)	0,00 (-0,59;1,41)	0,30 (1,11)	0,43 (-0,68;0,94)	0,920 ^T
E/I inicial	-0,48 (1,25)	-0,53 (-1,34;0,27)	-0,68 (0,90)	-0,75 (-1,10; -0,09)	0,391 ^T
E/I final	-0,35 (0,98)	-0,54 (-1,03;0,25)	-0,10 (1,32)	0,08 (-1,18;0,87)	0,512 ^T
Hb inicial (g/dL)	11,39 (0,99)	11,20 (10,70;11,8)	11,06 (1,17)	11,30 (10,6;11,7)	0,535 ^W
Hb final (g/dL)	12,4 (0,87)	12,35 (11,80;12,75)	12,41 (0,84)	12,45 (12,00;12,9)	0,944 ^T
Ferritina inicial (ng/mL)	99,18 (118,15)	54,00 (23,25;117,2)	50,33 (57,05)	29,35 (19,30;62,15)	0,053 ^W
Ferritina final (ng/mL)	35,17 (64,89)	20,15 (12,50;26,20)	26,86 (17,93)	22,45 (13,50;32,70)	0,450 ^W
vitB12 inicial (pmol/L)	203,84 (121,55)	157,76 (118,97;246,8)	395,03 (187,42)	352,09 (265,27;504,31)	<0,001 ^W
vitB12 final (pmol/L)	212,81 (97,35)	193,97 (126,35;284,85)	376,92 (159,38)	331,04 (267,49;445,57)	<0,001 ^W
Homocisteína inicial (µmol/L)	8,30 (3,44)	7,88 (6,14;10,28)	5,66 (2,14)	5,37 (4,78;7,10)	<0,001 ^T
Homocisteína final (µmol/L)	6,65 (2,40)	6,17 (4,7;8,18)	3,87 (0,66)	3,84 (3,48;4,22)	<0,001 ^T
Ác. metilmalônico inicial (µmol/L)	1,04 (1,51)	0,44 (0,25;0,91)	0,42 (0,48)	0,22 (0,16;0,48)	0,009 ^W
Ác. metilmalônico final (µmol/L)	0,27 (0,21)	0,24 (0,16;0,34)	0,08 (0,10)	0,00 (0,00;0,16)	0,004 ^W
Vitamina D inicial (nmol/L)	54,89 (20,18)	55,6 (41,45;65,45)	55,47 (17,12)	53,25 (44,05;60,95)	0,893 ^T
Vitamina D final (nmol/L)	53,74 (17,87)	50,45 (41,35;64,15)	55,28 (15,08)	49,90 (45,40;66,00)	0,811 ^W
Fósforo sérico inicial (mg/dL)	6,48 (0,64)	6,40 (6,10;6,90)	6,44 (0,72)	6,40 (6,00;6,80)	0,766 ^T
Fosforo sérico final (mg/dL)	6,04 (0,94)	5,85 (5,60;6,15)	5,96 (0,47)	5,80 (5,60;6,40)	0,814 ^W
Cálcio sérico inicial (mg/dL)	10,78 (0,49)	10,8 (10,45;11,05)	10,96 (0,6)	10,90 (10,50;11,20)	0,134 ^T
Cálcio sérico final (mg/dL)	10,61 (0,51)	10,50 (10,35;10,75)	10,40 (0,59)	10,30 (10,00;10,90)	0,154 ^W
Magnésio sérico inicial (mg/dL)	2,37 (0,19)	2,40 (2,20;2,50)	2,41 (0,15)	2,40 (2,30;2,50)	0,603 ^W
Magnésio sérico final (mg/dL)	2,28 (0,14)	2,30 (2,20;2,35)	2,30 (0,14)	2,30 (2,20;2,40)	0,660 ^T
Albumina inicial (g/dL)	4,21 (0,24)	4,20 (4,00;4,40)	4,29 (0,24)	4,30 (4,20;4,40)	0,126 ^W
Albumina final (g/dL)	4,52 (0,12)	4,50 (4,40;4,60)	4,48 (0,19)	4,40 (4,30;4,60)	0,227 ^W
Pré-Albumina inicial (mg/dL)	15,22 (3,60)	15,80 (13,30;18,20)	17,12 (4,69)	17,45 (13,55;20,25)	0,049 ^T
Pré-Albumina final (mg/dL)	18,58 (3,09)	18,90 (17,40;20,80)	20,09 (4,58)	20,00 (18,20;22,60)	0,241 ^T

Legenda: DP – Desvio Padrão. IIQ – Intervalo Interquartil. W – Teste de Mann-Whitney. T – Teste t para amostras independentes. E/I – Estatura/Idade. P/I – Peso/Idade. Hb – hemoglobina. vitB12 – vitamina B12. Ác. metilmalônico – ácido metilmalônico. PCR – proteína C reativa.

Na tabela 9 continuamos com análise comparativa, utilizando o coeficiente de regressão de Badj e incluindo a variável de tempo total de amamentação. Na análise não-ajustada as crianças que estavam em AM demonstraram níveis séricos menores de albumina e as amamentadas por mais tempo, níveis séricos menores de pré-albumina, contudo, na análise ajustada esse resultado não foi observado. Já a vitamina D, na análise ajustada, apresentou concentrações séricas menores quanto mais tempo a criança continuou em AM.

Tabela 9 - Análise da associação entre o desmame, o tempo de amamentação e os parâmetros nutricionais.

P/I	B (IC95%)	p-valor	Badj (IC95%)	p-valor
Não amamentou	0.424 (-1.233,-2.082)	0.607	0.439 (-2.324,3.202)	0.730
Tempo de total de amamentação	-0.015 (-0.111,0.080)	0.745	0.018 (-0.140,0.176)	0.803
E/I				
Não amamentou	0.842 (-1.014,2.699)	0.364	1.382 (-0.862,3.625)	0.200
Tempo de total de amamentação	0.019 (-0.088,0.126)	0.724	0.067 (-0.061,0.196)	0.271
Hb (g/dL)				
Não amamentou	0.922 (-0.612,2.456)	0.231	0.785 (-1.653,3.223)	0.490
Tempo de total de amamentação	0.019 (-0.069,0.108)	0.662	0.055 (-0.085,0.195)	0.402
Ferritina (ng/mL)				
Não amamentou	34.980 (-91.979,161.940)	0.580	-27.242 (-220.834,166.349)	0.754
Tempo de total de amamentação	0.066 (-7.302,7.434)	0.986	-3.881 (-14.006,6.244)	0.403
VitB12 (pmol/L)				
Não amamentou	48.324 (-138.590,235.238)	0.603	224.113 (-334.058,782.284)	0.382
Tempo de total de amamentação	6.567 (-4.383,17.517)	0.232	7.262 (-18.669,33.193)	0.536
Homocisteína (μmol/L)				
Não amamentou	-0.608 (-4.524,3.308)	0.755	-4.150 (-9.984,1.684)	0.142
Tempo de total de amamentação	-0.044 (-0.273,0.185)	0.699	-0.184 (-0.491,0.123)	0.209
Ác. metilmalônico (μmol/L)				
Não amamentou	2.468 (-3.561,8.497)	0.412	-5.946 (-17.180,5.288)	0.257
Tempo de total de amamentação	0.023 (-0.331,0.376)	0.897	-0.119 (-0.641,0.403)	0.612
Vitamina D (nmol/L)				
Não amamentou	-3.369 (-24.302,17.564)	0.746	-22.017 (-67.867,23.833)	0.300
Tempo de total de amamentação	-0.186 (-1.401,1.029)	0.758	-2.417 (-4.815,-0.019)	0.049
Fósforo sérico (mg/dL)				
Não amamentou	0.348 (-1.032,1.729)	0.612	-1.017 (-4.606,2.573)	0.542
Tempo de total de amamentação	0.015 (-0.065,0.094)	0.714	-0.030 (-0.235,0.176)	0.755
Cálcio sérico (mg/dL)				
Não amamentou	-0.282 (-1.316,0.752)	0.584	-1.321 (-3.325,0.683)	0.173
Tempo de total de amamentação	-0.001 (-0.061,0.059)	0.973	-0.032 (-0.147,0.083)	0.550
Magnésio sérico (mg/dL)				
Não amamentou	-0.048 (-0.330,0.233)	0.730	-0.315 (-0.890,0.260)	0.251
Tempo de total de amamentação	-0.001 (-0.018,0.015)	0.891	-0.022 (-0.055,0.011)	0.168

Albumina (g/dL)				
Não amamentou	-0.28 (-0.547,-0.014)	0.040	-0.427 (-0.985,0.130)	0.118
Tempo de total de amamentação	-0.01 (-0.026,0.005)	0.193	-0.013 (-0.045,0.018)	0.371
Pré-albumina (mg/dL)				
Não amamentou	7.385 (-0.698,15.469)	0.072	8.281 (-28.421,44.982)	0.525
Tempo de total de amamentação	0.534 (0.059,1.009)	0.029	0.473 (-1.716,2.662)	0.541
PCR (mg/dL)				
Não amamentou	6.141 (-12.046,24.329)	0.497	0.238 (-2.82,3.297)	0.862
Tempo de total de amamentação	0.143 (-0.924,1.210)	0.787	0.003 (-0.140,0.145)	0.968

Legenda: B – Coeficiente de regressão. B_{adj} – Coeficiente de regressão ajustado. IC95% – Intervalo com 95% de confiança. P/I – Peso/Idade. E/I – Estatura/Idade. Hb – hemoglobina. VitB12 – vitamina B12. Ác. metilmalônico – ácido metilmalônico. PCR – proteína C reativa.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo é pioneiro no Brasil na avaliação do aleitamento materno em lactentes de região de baixa-média renda com ALV, comparando a lactentes com sintomas gastrointestinais não-alérgicos e crianças saudáveis. Observamos que crianças sem sintomas gastrointestinais permanecem em aleitamento materno por mais tempo e crianças com sintomas gastrointestinais não-alérgicos são desmamadas mais precocemente. A persistência dos sintomas gastrointestinais neste grupo de crianças pode ter contribuído para o uso de chupetas e de fórmulas com o intuito de reduzir os sintomas e, por consequência, ter influenciado negativamente na continuidade do aleitamento materno (Hendaus et al., 2018; Pérez-Escamilla et al., 2019; Jalali et al., 2021; Al Hariri, 2023; Janwadkar et al., 2023).

Pais de crianças com sintomas gastrointestinais podem estar mais susceptíveis ao apelo da indústria que divulga nos meios de comunicação as fórmulas infantis como uma solução para tais sintomas. Provavelmente, os pais das crianças sintomáticas não-alérgicas tenham sido influenciados por esse *marketing* na expectativa de melhorar o quadro clínico dos seus filhos (Romo-Palafox; Pomeranz; Harris, 2020; Jones et al., 2022).

A análise de sobrevivência demonstrou um declínio linear significativo nas taxas de amamentação por volta do quarto mês de seguimento nos três grupos em estudo. O retorno da mãe às atividades laborais ao final da licença maternidade pode ser uma explicação para esse achado (Hendaus et al., 2018; Jalali et al., 2021; Burns et al., 2023; Souza et al., 2023). Uma revisão e meta-análise recente demonstrou que o retorno da mulher ao trabalho é uma entre três principais causas de desmame, afetando negativamente o início e a duração da amamentação, bem como a prevalência da amamentação exclusiva, com a introdução de fórmulas infantis, principalmente se a mãe trabalha em turno integral (Dutheil et al., 2021).

Na análise de percepção materna sobre os motivos do desmame foi observado que os principais motivos em crianças sintomáticas não-alérgicas foram a produção materna insuficiente de leite, os sintomas apresentados pela criança, a sua recusa em mamar e a dieta de eliminação do leite de vaca/derivados no período de investigação da ALV, esta última também descrita pelo grupo de crianças com alergia ao leite de vaca. O estresse materno, o choro do bebê, a falta de orientação sobre a amamentação, a ausência de apoio familiar e social, dentre outros, influenciam na produção de leite materno, interferindo negativamente no AM (Hendaus et al., 2018; Pérez-Escamilla et al., 2019; Jalali et al., 2021). Distúrbios gastrointestinais

funcionais (FGIDs) decorrentes da imaturidade do sistema imunológico e gastrointestinal acometem 50% dos bebês de zero a seis meses de vida, sendo os sintomas mais frequentes as regurgitações, cólicas e constipação intestinal. Tais sintomas geram sofrimento nas crianças, ansiedade nos pais, reduzem a qualidade de vida da família e podem provocar sintomas depressivos na mãe e fragilidade no vínculo mãe-filho reduzindo, assim, a duração do aleitamento materno. Desta forma, o diagnóstico das FGIDs deve ser ratificado quando as doenças gastrointestinais e a alergia alimentar forem descartadas, com orientações adequadas aos pais da criança para que o aleitamento materno seja continuado (Vandenplas; Hauser; Salvatore, 2019; Vandenplas et al., 2021).

Possivelmente, a persistência dos sintomas, a indefinição no diagnóstico, a dieta materna de eliminação, a ansiedade e a preocupação relacionada à saúde do bebê podem também ter culminado na interrupção do aleitamento materno pela mãe de crianças com sintomas não-alérgicos (Karcz; Lehman; Królak-Olejnik, 2020; Nordhagen et al., 2023). A realização dos testes de provocação oral (TPO) em tempo oportuno para a elucidação diagnóstica da ALV é de fundamental importância para reduzir o tempo de dieta de eliminação do leite de vaca em pacientes não alérgicos, podendo minimizar os desafios para a continuidade da amamentação (Meyer et al., 2023). Também foi observado que a taxa de desmame no grupo ALV foi inferior quando comparado às crianças sintomáticas não-alérgicas. Uma possível explicação para esse achado se deve ao fato de as crianças sintomáticas receberem alta do NAAS após TPO negativo, ao contrário das crianças com TPO positivo, que são mantidas em seguimento nesse centro de referência para o tratamento da alergia alimentar. A equipe do NAAS segue mais estritamente os protocolos clínicos nacionais e internacionais de manejo das doenças gastrointestinais, dando suporte familiar para a manutenção do aleitamento materno (SES, 2018; Solé et al., 2018; Vandenplas et al., 2021; Fiocchi et al., 2022). Além disso, boa parte das crianças com suspeita de alergia alimentar já chega na primeira consulta do NAAS com fórmula de tratamento para ALV, prescrita pelo pediatra responsável. A baixa adesão dos pediatras brasileiros aos consensos e diretrizes das doenças gastrointestinais pode levar a uma assistência pouco otimizada para essas queixas e consequente desmame (Vieira, 2019).

Com relação aos principais fatores associados ao tempo de AM nos 18 meses de seguimento das crianças, o uso do copinho foi a via de oferta de complementação láctea que demonstrou maior proteção na continuidade do AM. A técnica do copinho é uma estratégia alimentar de baixo custo, a qual diminui os índices de desmame por seu processo ser semelhante à sucção do seio materno e por impedir a confusão de bicos, diferentemente do uso de

mamadeiras, que gera disfunção orofacial, pega incorreta da mama, interferência na afetividade entre mãe-filho e desmame precoce (Batista et al., 2018; Moraes et al., 2017).

No início do estudo, a concentração da vitamina B12 sérica foi inferior em crianças amamentadas com consequente elevação do ácido metilmalônico e da homocisteína, que são os marcadores de deficiência funcional dessa vitamina quando elevados. Estudo prévio desse grupo de pesquisa demonstrou que, ao utilizar algoritmo que considera não apenas a vitamina B12 sérica, mas, também seus marcadores bioquímicos (homocisteína e ácido metilmalônico), nenhuma criança do grupo controle assintomático apresentou deficiência de B12 no início do estudo, mas 13% das crianças com ALV apresentou, o que demonstra a importância de uma análise ampliada dos marcadores dessa vitamina (Jardim-Botelho et al., 2023).

A concentração da albumina e da pré-albumina sérica se mostrou mais elevada em crianças desmamadas no início do estudo. Esse achado pode estar relacionado ao maior conteúdo proteico presente em fórmulas hipoalergênicas (1,7-1,9 g/100ml) e em fórmulas infantis (1,2-1,4g/100ml) em relação ao leite materno (0,8g/100 ml) (Hasbaoui et al., 2021; SBP, 2021). Entretanto, ao final do estudo não houve diferença significativa entre os níveis séricos de pré-albumina nas crianças amamentadas e não amamentadas, sugerindo pouca relevância clínica/nutricional da diferença sérica observada no início do estudo. A ausência de diferenças nutricionais significativas entre as crianças amamentadas e não amamentadas pode ser atribuída ao uso de fórmulas infantis desenhadas para atender às necessidades nutricionais de lactentes pelas crianças desmamadas e, também, pelo acompanhamento nutricional ambulatorial que todas as crianças avaliadas receberam ao longo do seguimento do estudo.

Os níveis séricos de vitamina D foram significativamente menores em crianças que permaneceram em aleitamento materno por mais tempo, talvez pelo fato do leite materno fornecer uma quantidade restrita de vitamina D em comparação às fórmulas infantis que possuem essa vitamina acrescentada em suas formulações e, também, provavelmente pela reduzida exposição solar das lactantes durante o período de isolamento social na pandemia do Covid-19, uma vez que os níveis de vitamina D no leite materno correlaciona-se com os níveis séricos da mãe (Dos Santos et al., 2020; Kazemain et al., 2022). Entretanto, os níveis séricos de vitamina D dos lactentes estiveram dentro dos níveis considerados adequados em todos os grupos avaliados.

A elevada perda de seguimento foi uma limitação do presente estudo. Maiores perdas ocorreram devido à pandemia de COVID-19, apesar do uso de estratégias para manter a

coleta dos dados, como comunicação telefônica com os genitores, coleta de materiais biológicos para os exames laboratoriais em domicílio e otimização do recrutamento das crianças na etapa final do estudo para um atendimento individualizado, seguindo as normas do uso de máscaras, higienização das mãos e controle de aglomerações. A análise de sobrevida foi uma estratégia metodológica que minimizou a perda de dados sobre o tempo de aleitamento materno.

As vantagens desse estudo incluem a homogeneidade no nível socioeconômico entre os grupos avaliados, a inclusão de grupos controle para comparação com as crianças com ALV e a realização do teste de provocação oral para a confirmação diagnóstica da ALV.

7. CONCLUSÃO

Crianças com ALV e com queixas gastrointestinais não-alérgicas desmamaram mais precocemente em relação a crianças assintomáticas. As principais causas de desmame na perspectiva materna no grupo ALV incluem a dieta de eliminação do leite de vaca, ingurgitamento mamário e reações alérgicas apresentadas pela criança. O uso de copinho para complementar o leite materno foi o principal fator associado à maior duração do aleitamento materno em todo o grupo de lactentes avaliados, independentemente do nível socioeconômico e da presença ou não de sintomatologia gastrointestinal. O perfil antropométrico e os biomarcadores de nutrientes avaliados não variaram significativamente de acordo com o tempo de aleitamento materno, à exceção da vitamina D, embora a média da concentração sérica desta vitamina tenha se mostrado adequada em todos os grupos avaliados.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Boa parte dos determinantes do desmame do leite materno, observados nesse estudo, são fatores passíveis de intervenção, se feitos precocemente. Os resultados desse estudo contribuem com informações importantes para a elaboração de estratégias de políticas de saúde para a proteção e promoção do aleitamento materno na atenção básica do lactente, tanto em âmbito público, quanto privado. Atenção especial deve ser dada às queixas gastrointestinais na puericultura, visando à prevenção do desmame.

Este estudo recebeu financiamento da Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe - FAPITEC/SE – PPSUS, com valor aprovado sem alterações orçamentárias de R\$ 48.090,28.

REFERÊNCIAS

- ABEP. Critérios de Classificação Econômica Brasil. In: Alterações na aplicação do Critério Brasil. **Abep**, v. 1, p. 1–5, 2018.
- AL-IEDE, M. et al. Perspectives on Non-IgE-Mediated Gastrointestinal Food Allergy in Pediatrics: A Review of Current Evidence and Guidelines. **Journal of Asthma and Allergy**, v. 16, n. March, p. 279–291, 2023.
- AL HARIRI, A. A new technology for pacifier weaning: a thematic analysis. **Frontiers in Pediatrics**, v. 11, n. May, p. 1–9, 2023.
- AMARAL, S. A. DO et al. Intenção de amamentar, duração do aleitamento materno e motivos para o desmame: um estudo de coorte, Pelotas, RS, 2014. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, v. 29, n. 1, p. e2019219, 2020.
- AQUINO, G. et al. Enfrentamento de profissionais de enfermagem na manutenção da amamentação pós-licença maternidade. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 15, p. 1–7, 2023.
- BATISTA, C. L. C. et al. Association between pacifier use and bottle-feeding and unfavorable behaviors during breastfeeding. **Jornal de Pediatria (Versão em Português)**, v. 94, n. 6, p. 596–601, 2018.
- BOMFIM, V. V. B. DA S. et al. Consequência do desmame precoce para a criança. v. 2021, p. 1–6, 2021.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, I. E I. E. EM S. **Relatório para a sociedade. Informações sobre recomendações de incorporação de medicamentos e outras tecnologias no SUS. Teste de Provocação Oral para alergia à proteína do leite de vaca.**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2022/sociedade/20220523_resoc_320_tpo_aplv_lnl.pdf>
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. DE A. À S. D. DE A. B. **Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar.** [s.l: s.n.].
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica.** [s.l: s.n.].
- BRASIL. Fórmulas nutricionais para crianças com alergia à proteína do leite de vaca. **MINISTÉRIO DA SAÚDE - CONITEC**, p. 30, 2018.
- BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Alergia à Proteína do Leite de Vaca. **MINISTÉRIO DA SAÚDE - CONITEC**, 2022.
- BRITO, H. DE C. A. DE et al. Estado Nutricional E Hábitos Alimentares De Crianças Diagnosticadas Com Alergia a Proteína Do Leite De Vaca Em Dieta De Exclusão/ Nutritional Status and Eating Habits of Children Diagnosed With Cow'S Milk Protein Allergy on an Exclusion Diet. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10029–10042, 2021.

- BUCCINI, G. DOS S. et al. Pacifier use and interruption of exclusive breastfeeding: Systematic review and meta-analysis. **Maternal and Child Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 1–19, 2017.
- BURNS, E. et al. Breastfeeding after return to work: An Australian national workplace survey. **Maternal and Child Nutrition**, v. 19, n. 3, 2023.
- CALVANI, M. et al. Oral food challenge. **Medicina (Lithuania)**, v. 55, n. 10, p. 1–16, 2019.
- CORDERO, R. C.; PRADO, S. F.; JIMÉNEZ, P. B. Actualización em manejo de alergia a la proteína de leche de vaca: fórmula lácteas disponibles y otros brebajes. **Revista Chilena de Pediatría**, v. 89, n. 3, p. 310–317, 2018.
- CORTELO, F. M. **Senso de coerência e fatores sociodemográficos associados a gravidez não planejada e ao desmame precoce. Tese (Doutorado em Ciências)**. [s.l: s.n.].
- DOS SANTOS, R. N. et al. Reasons to avoid vitamin D deficiency during COVID-19 pandemic. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 64, n. 5, p. 498–506, 2020.
- DUTHEIL, F. et al. Breastfeeding after returning to work: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 16, p. 1–21, 2021.
- FAZAL, A. **Manual para explicar ao pessoal de saúde Código Internacional de Comercialização de Substitutos do Leite Materno**. IBFAN.
- FIOCCHI, A. et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines update – I – Plan and definitions. **World Allergy Organization Journal**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2022.
- FOLKER-MAGLAYA, C. et al. Implementing a breastfeeding toolkit for nursing education. **Journal of Perinatal and Neonatal Nursing**, v. 32, n. 2, p. 153–163, 2018.
- FONG, A. T. et al. The Economic Burden of Food Allergy: What We Know and What We Need to Learn. **Current Treatment Options in Allergy**, v. 9, n. 3, p. 169–186, 2022.
- FOX, A. et al. An update to the Milk Allergy in Primary Care guideline. **Clinical and Translational Allergy**, v. 9, n. 1, p. 1–7, 2019.
- GAMIROVA, A. et al. Food Proteins in Human Breast Milk and Probability of IgE-Mediated Allergic Reaction in Children During Breast-feeding: A Systemic Review. **J Allergy Clin Immunol Pract**, 2022.
- GRANJA, I. P. T. et al. **Nova Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados**. [s.l: s.n.].
- HASBAOUI, B. EL et al. Vitamin b12 deficiency: Case report and review of literature. **Pan African Medical Journal**, v. 38, p. 2–7, 2021.
- HEINE, R. G. Food Allergy Prevention and Treatment by Targeted Nutrition. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 72, n. suppl 3, p. 33–45, 2018.
- HENDAUS, M. A. et al. Breastfeeding rates and barriers: A report from the state of Qatar. **International Journal of Women's Health**, v. 10, p. 467–475, 2018.
- HOSSNY, E. et al. Challenges of managing food allergy in the developing world. **World Allergy Organization Journal**, v. 12, n. 11, p. 100089, 2019.
- JALALI, F. et al. Nursing strikes among infants and its affecting factors in Rafsanjan city.

Journal of medicine and life, v. 14, n. 1, p. 56–60, 2021.

JANWADKAR, A. et al. Perception of pacifier use among caregivers of infants 0–1 years of age. **Journal of Investigative Medicine**, v. 71, n. 8, p. 941–945, 23 dez. 2023.

JARDIM-BOTELHO, A. et al. Growth and Nutritional Biomarkers in Brazilian Infants with Cow's Milk Allergy at Diagnosis and 18-Month Follow-Up: A Prospective Cohort Study. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 355, 2023.

JONES, A. et al. Digital Marketing of Breast-Milk Substitutes: a Systematic Scoping Review. **Current Nutrition Reports**, v. 11, n. 3, p. 416–430, 2022.

JOSÉ, D. K. B. et al. Relação Entre Desmame Precoce E Alergias Alimentares Relationship Between Early Weaning and Food Allergies. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, p. 66–74, 2016.

JOSÉ, J. A. et al. Prevalence of reported food allergies in Brazilian preschoolers living in a small Brazilian city. **Allergy, Asthma and Clinical Immunology**, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2022.

KARCZ, K.; LEHMAN, I.; KRÓLAK-OLEJNIK, B. Foods to avoid while breastfeeding? Experiences and opinions of polish mothers and healthcare providers. **Nutrients**, v. 12, n. 6, 2020.

KAZEMAIN, E. et al. The Effect of Maternal Vitamin D Supplementation on Vitamin D Status of Exclusively Breastfeeding Mothers and Their Nursing Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. **Advances in Nutrition**, v. 13, n. 2, p. 568–585, 2022.

KOTCHETKOFF, E. C. DE A.; DE OLIVEIRA, L. C. L.; SARNI, R. O. S. Elimination diet in food allergy: friend or foe? **Jornal de Pediatria**, v. 000, n. xxx, 2023.

LABROSSE, R.; GRAHAM, F.; CAUBET, J. C. Non-ige-mediated gastrointestinal food allergies in children: An update. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 1–28, 2020.

LIMA, A. P. C.; NASCIMENTO, D. D. S.; MARTINS, M. M. F. A prática do aleitamento materno e os fatores que levam ao desmame precoce: uma revisão integrativa. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 6, n. 2, p. 189, 2018.

LOKOSSOU, G. A. G. et al. Human Breast Milk: From Food to Active Immune Response With Disease Protection in Infants and Mothers. **Frontiers in Immunology**, v. 13, n. April, p. 1–19, 2022.

MCWILLIAM, V. et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) guidelines update – X – Breastfeeding a baby with cow's milk allergy. **World Allergy Organization Journal**, v. 16, n. 11, 2023.

MEYER, R. et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guideline update – VII – Milk elimination and reintroduction in the diagnostic process of cow's milk allergy. **World Allergy Organization Journal**, v. 16, n. 7, p. 100785, 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Bases para a discussão da Política Nacional de Promoção, Proteção e Apoio ao Aleitamento Materno**. [s.l: s.n.].

MORAES, B. A. et al. Fatores associados à interrupção do aleitamento materno exclusivo em lactentes com até 30 dias. **Revista gaucha de enfermagem**, v. 37, n. spe, p. e20160044, 2017.

NORDHAGEN, L. S. et al. Maternal food-avoidance diets and dietary supplements during

breastfeeding. **Nursing Open**, v. 10, n. 1, p. 230–240, 2023.

NORTH, K. et al. Breastfeeding in a Global Context: Epidemiology, Impact, and Future Directions. **Clinical Therapeutics**, v. 44, n. 2, p. 228–244, 2022.

OKAFOAGU, N. C. et al. Factors influencing complementary and weaning practices among women in rural communities of Sokoto state, Nigeria. **Pan African Medical Journal**, v. 28, p. 1–12, 2017.

PEDIATRIA, S. B. DE. **Guia prático de alimentação da criança de 0 a 5 anos**. [s.l.: s.n.].

PÉREZ-ESCAMILLA, R. et al. Perspective: Should Exclusive Breastfeeding Still Be Recommended for 6 Months? **Advances in Nutrition**, v. 10, n. 6, p. 931–943, 2019.

PÉREZ-ESCAMILLA, R. et al. Breastfeeding: crucially important, but increasingly challenged in a market-driven world. **The Lancet**, v. 401, n. 10375, p. 472–485, 2023.

PIRES, M. F. P. et al. a Atuação Do Enfermeiro No Desmame Precoce: Uma Revisão Integrativa. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 21, n. 1, p. 1–19, 2022.

ROCHA-CORREIA, C. V. DE S.; FELIPE, M. S. S. Conhecer antes de incorporar: um retrato dos programas para alergia ao leite implementados no Brasil. **Arquivos de Asmas Alergia e Imunologia**, v. 7, n. 1, p. 23–40, 2023.

ROLLINS, N. et al. Por que investir e o que será necessário para melhorar as práticas de amamentação? **Epidemiol. serv. saúde**, p. 25–44, 2016.

ROMO-PALAFOX, M. J.; POMERANZ, J. L.; HARRIS, J. L. Infant formula and toddler milk marketing and caregiver's provision to young children. **Maternal and Child Nutrition**, v. 16, n. 3, p. 1–11, 2020.

SAMPSON, H. A. et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, n. 6, p. 1260–1274, 2012.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SERGIPE. Protocolo clínico estadual de alergia alimentar à proteína do leite de vaca (aplv). 2018.

SILVA, K. L. R. et al. Atuação do enfermeiro frente à criança com alergia a proteína do leite de vaca : uma revisão bibliográfica. **REAEnf/EJNC**, v. 2, p. 1–6, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; DEPARTAMENTO CIENTÍFICO DE ALEITAMENTO MATERNO. Uso de chupeta em crianças amamentadas: pros e contras. **Guia Prático de Atualização**, v. Agosto, n. 3, p. 16, 2017.

SOLÉ, D. et al. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018. **Arq Asma Alerg Imunol**, v. 2, n. 1, p. 7–82, 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO. **Aleitação materno: Aleitamento materno: prevalência e práticas entre crianças brasileiras menores de 2 anos. 4: ENANI – 2019Documento eletrônico**. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, Coordenador geral, Gilberto Kac, 2021. Disponível em: <<https://enani.nutricao.ufrj.br/index.php/relatorio-4-aleitamento-materno/>>

VAN DEN ELSEN, L. W. J. et al. Shaping the gut microbiota by breastfeeding: The gateway to allergy prevention? **Frontiers in Pediatrics**, v. 7, n. FEB, p. 1–10, 2019.

VANDENPLAS, Y. et al. Current guidelines and future strategies for the management of cow's milk allergy. **Journal of Asthma and Allergy**, v. 14, n. October, p. 1244–1256, 2021.

VANDENPLAS, Y. et al. **An ESPGHAN position paper on the diagnosis, management and prevention of cow's milk allergy**. [s.l.: s.n.].

VANDENPLAS, Y.; HAUSER, B.; SALVATORE, S. Functional gastrointestinal disorders in infancy: Impact on the health of the infant and family. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 207–216, 2019.

VICTORA, C. G. et al. Amamentação no século 21: epidemiologia, mecanismos, e efeitos ao longo da vida. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 25, n. 1, p. 1–24, 2016.

VIEIRA, M. C. et al. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. **BMC Pediatrics**, v. 10, 2010.

VIEIRA, S. C. F. Adesão de Pediatras às diretrizes para doenças gastrointestinais. **Universidade Federal de Sergipe**, 2019.

WHO. WHO Child Growth Standards. **Department of Nutrition for Health and Development**, v. 51, n. 12, p. 1–336, 2009.

WHO. **Guideline: Counselling of Women to Improve Breastfeeding Practices**. [s.l.: s.n.].

WHO NUTRITION AND FOOD SAFETY TEAM. **Global nutrition targets 2025: policy brief series**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NMH-NHD-14.2>>.

ZANETTI, J. T.; SILVA, M. N. DA. Estudo sobre alergia à proteína do leite de vaca e alimentos específicos para alérgicos Study on cow ' s milk protein allergy and specific foods for allergic Estudio sobre alergia a la proteína de leche de vaca y alimentos específicos para alérgicos. **Research, Society and Development**, v. 2022, n. 1, p. 1–12, 2022.

ZEPEDA-ORTEGA, B. et al. Strategies and Future Opportunities for the Prevention, Diagnosis, and Management of Cow Milk Allergy. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. June, p. 1–13, 2021.

ANEXO A - Questionário geral



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
 Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
 Biomédicas - Bairro Sanatório
 CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
 Email: ppgcs.ufs@gmail.com



Form 1: Questionário Geral – Aplicado no Cadastro

COD: _____

- Nome da criança: _____ Prontuário: _____
- Nome do responsável: _____ Data: ____/____/____
- Contato telefone: _____ Parentesco com a criança: () Mãe () Pai () Outro _____
- Data de nascimento: ____/____/____
- 1 Peso ao nascer da criança: _____ Estatura ao nascer da criança: _____ Apgar: ____/____
- 2 Tipo de parto: () 1- cesária () 2- normal
- 3 Idade gestacional: _____
- 4 Sexo da criança: () 1- masculino () 2- feminino
- 5 Idade atual da mãe: _____
- 6 Idade atual do pai: _____
- 7 Número de irmãos: _____
- 8 Ordem de nascimento da criança: 1- () Primeiro filho 2- () Segundo 3- () Terceiro 4- () Quarto
- 9 Algum membro da família possui:
- 1- () asma 2- () rinite alérgica 3- () eczema atópico 4- () alergia alimentar
- 10 Se sim na questão 9, qual(is) membro(s) da família?
- 1- () pai 2- () mãe 3- () irmãos. Quantos irmãos tem ou teve os problemas acima? _____
- 11 A mãe fumou durante a gestação: () 1-sim () 2-não
- 12 Sua moradia é em qual região: 1- () urbana de Aracaju 2- () urbana do interior 3- () rural¹
- 13 Na sua casa possui:
- a- Rede de esgoto: () 1-sim () 2-não
- b- Coleta de lixo: () 1-sim () 2-não
- 14 Quantos cômodos possuem na casa (incluindo banheiro, sala e cozinha): _____
- 15 Quantas pessoas residem na casa: _____
- 16 Usou alguma fórmula na maternidade? () 1-sim () 2-não
- 17 A criança recebeu leite do peito: () 1- sim () 2- não. Se sim, até que idade? _____

¹ Considerar área rural se local onde mora tiver criação de animais (gado, porco, galinha, etc.), e se os pais cuidarem pessoalmente da criação (Roduit, C. *et al.* 2012 e 2014).

18 Teve sintomas alérgicos durante o aleitamento? () 1- sim () 2- não

19 Se sim para a questão 18, qual(is): _____

20 Se houve desmame do aleitamento materno, quais os motivos:

1. () mastite 2.() ingurgitamento 3.() rachaduras 4.() dieta de exclusão 5.() outros

21 Até que idade a criança recebeu somente leite do peito (sem chás, água, leite, outras bebidas ou alimentos)?

1-() Nunca 2-() ≤ 15 dias 3-() 16-29 dias 4-() 1 mês 5-() 2 meses 6-() 3 meses
7-() 4 meses 8-() 5 meses 9-() até o momento

22 A criança fez uso de algum tipo de fórmula infantil até o momento da admissão no Núcleo de Alergia? () 1- sim () 2- não Se sim, perguntar:

a) Qual (is) fórmula (s) utilizou? _____

b) Com qual idade utilizou? _____

23 Se sim para a questão 22, como foi ofertada a fórmula para a criança?

1.() mamadeira 2. () copinho 3. () colher 4. () sonda orogástrica 5. () sonda nasoentérica

24 A criança faz uso de chupeta? () 1- sim () 2- não

25 Se sim para a questão 24, desde qual idade usa chupeta? _____

26 Se for do GRUPO CASO, quais os sintomas relatados relacionados à APLV (**ver no prontuário**):

I. Gastrointestinais Subjetivos 1.() Prurido oral 2.() Cólicas 3.() Gases Objetivos 4.() Regurgitações 5.() Reação perioral 6.() Vômitos 7.() Hematêmese 8.() Distensão abdominal 9.() Constipação 10.() Diarreia 11.() Sangue nas fezes	12.() Melena 13.() Enterorragia 14.() Assadura perianal 15.() Baixo ganho ponderal II. Respiratórios Subjetivos 16.() Prurido nasal e de garganta Objetivos 17.() Rinoconjuntivite 18.() Sintomas laríngeos (rouquidão, disfonia) 19.() Tosse 20.() Prurido nasal e de garganta 21.() Falta de ar/BCE/sibilância	III. Dermatológicos Subjetivos 22.() Prurido corporal Objetivos 23.() Hiperemia 24.() Urticária/angioedema 25.() Eczema 26.() Dermatite atópica IV. Cardiovasculares 27.() Hipotensão 28.() Sonolência e desmaios IV. Inespecíficos 29.() Choro 30.() Irritabilidade
---	---	---

27 Diagnóstico médico:

1-() DRGE like 2-() FPIAP 3-() FPE 4-() FPIES aguda 5-() FPIES crônica	6-() constipação 7-() EEo 8-() gastroenteropatia Eo 9-() urticária de contato 10-() asma e rinoconjuntivite	11-() dermatite atópica 12-() anafilaxia 13-() urticária aguda ou angioedema 14-() hemossiderose pulmonar
---	--	--

28 TPO diagnóstico (**ver no prontuário**): 1-() positivo 2-() negativo

ANEXO B - Questionário de classificação do nível socioeconômico familiar no Brasil



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
 Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
 Biomédicas - Bairro Sanatório
 CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
 Email: ppgcs.ufs@gmail.com



QUESTIONÁRIO DE CLASSIFICAÇÃO DO NÍVEL SOCIOECONÔMICO FAMILIAR NO BRASIL

Aplicado no Cadastro

COD: _____

Nome da criança: _____

Nome do entrevistado: _____

1. Quem é o chefe da família (sustento financeiro)?

OPÇÕES	RESPOSTA
Pai	
Mãe	
Os dois pais	
Filho (a)	
Avô (ó)	
Outros	
Não sei/não lembro	

2. Qual é o grau de instrução do chefe da família? Considere como chefe da família a pessoa que contribui com a maior parte da renda do domicílio.

OPÇÕES	RESPOSTA
Analfabeto / Fundamental I incompleto	
Fundamental I completo / Fundamental II incompleto	

Fundamental completo/Médio incompleto	
Médio completo/Superior incompleto	
Superior completo	

3. Qual a renda familiar?

OPÇÕES	RESPOSTA
Até 1 salário mínimo	
De 1 a 2 salários mínimos	
De 2 a 3 salários mínimos	
De 3 a 5 salários mínimos	
Acima de 5 salários mínimos	
Não sei/não lembro/prefiro não responder	

4. No domicílio tem:

ITENS DE CONFORTO	NÃO POSSUI	1	2	3	4+
Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular					
Quantidade de empregados mensalistas, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana					
Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho					
Quantidade de banheiros					
DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel					
Quantidade de geladeiras					
Quantidade de freezers independentes ou parte da geladeira duplex					
Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones					
Quantidade de lavadora de louças					
Quantidade de fornos de micro-ondas					

Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional					
Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca					

5. A água utilizada neste domicílio é proveniente de?

OPÇÕES	RESPOSTA
Rede geral de distribuição	
Poço ou nascente	
Outro meio	

6. Considerando o trecho da rua do seu domicílio, você diria que a rua é:

OPÇÕES	RESPOSTA
Asfaltada/Pavimentada	
Terra/Cascalho	

ANEXO C - Formulário 'idade de introdução de alimentos novos'



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
 Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
 Biomédicas - Bairro Sanatório
 CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
 Email: ppgcs.ufs@gmail.com



Formulário 'idade de introdução de alimentos novos' – Aplicar aos 6, 9 e 12 meses de idade

Nome da criança: _____ Cod: _____

Data: ____/____/____

1- Seu filho já comeu algum desses alimentos até o momento?

Nº do grupo alimentar	Grupo alimentar	Exemplos	Sim= 1 Não = 2
1	Leite de vaca e derivados (não ultraprocessados)	Leite de vaca <i>in natura</i> ou em pó, queijo, iogurte e outros laticínios	
2	Cereais fonte de glúten	Centeio, trigo, aveia (farinha de aveia ou flocos) e cevada	
3	Outros cereais	Milho, arroz, cuscuz de milho e arroz	
4	Feijões	Feijão, lentilha, grão de bico, ervilha, soja	
5	Macarrão, pão, biscoito	Pães diversos, biscoitos diversos, macarrão	
6	Cereais infantis (glúten)	Mucilon, Nutrilon, Vitalon, Milnutri cereais, farinha láctea, etc.	
7	Outros cereais infantis	Cremogema, Arrozina, Maisena, fubá, etc.	
8	Tubérculos	Batatas, macaxeira, inhame, mandioquinha	
9	Legumes	Beterraba, brócolis, cenoura, quiabo, vagem, etc.	
10	Vegetais folhosos e temperos	Alface, repolho, rúcula, espinafre, agrião, cebola, alho, coentro, salsa, etc.	
11	Frutas	Abacaxi, banana, goiaba, maçã, pera, etc.	
12	Sucos	Suco da fruta com ou sem açúcar	
13	Carnes	Carne de boi, frango, porco, carneiro, etc.	
14	Ovos	Ovo de galinha, codorna, etc.	
15	Peixes	Peixes em geral (salmão, sardinha, atum, robalo etc)	
16	Crustáceos e moluscos	Caranguejo, camarão, ostra, etc.	
16	Nozes e sementes	Amendoim, castanha de caju, nozes, gergelim, etc.	
17	Comidas prontas	Papinhas Nestlé, papinhas Empório da papinha, etc	
18	Refrigerantes e néctar	Fanta, cola, sucos de caixinha, suco em pó, etc.	
19	Biscoitos e salgadinhos	Bolachas, biscoito maisena, cream cracker, recheados, wafer, cheetos, cheeps, etc.	
20	Iogurte com açúcar e corantes	Danoninho, chaminho, iogurtes ultraprocessados em geral	
21	Água de coco	Água de coco	

2- Seu filho já recebe refeição completa (papa principal)?

() 1- sim () 2- não

- 3- Se sim para a questão 2, na maioria das vezes, qual a fonte da comida/papa?
 1-() comprada pronta (ex.:papa Nestlé, empório da papinha, etc)
 2-() feita em casa
- 4- Se a criança já tiver iniciado a transição alimentar, perguntar:
 a) Qual foi o primeiro alimento introduzido na dieta (além de leite materno/fórmula infantil) do seu filho? Anotar: _____
 b) Qual idade ele tinha? _____
- 5- Com que frequência você oferece um alimento novo para o seu filho?
 1-() a cada dia 2-() a cada 2 dias 3-() a cada 3 dias
 4-() a cada 7 dias 5-() a cada 10 dias 6-() > 10 dias
- 6- Já oferece água para seu filho: 1- () Sim 2- () Não
- 7- Se sim para a questão 6, quantas vezes ao dia você oferece, em média?
 1-() 1 vez 2-() 2 vezes 3-() 3 vezes 4-() 4 vezes 5-() > 4 vezes
- 8- Seu filho gosta de beber água? 1- () Sim 2- () Não
- 9- Seu filho tem alergia a alimentos, além do leite de vaca? () 1- sim () 2-não. Se sim, qual(is)? _____

- 10- Seu filho apresenta outras doenças alérgicas como:
 () 1. Dermatite atópica
 () 2. Rinite alérgica
 () 3. Asma
 () 4. Não
- 11- Utiliza algum suplemento nutricional (polivitamínico, vitamina D, sulfato ferroso/ferro, TCM, maltodextrina ou outros suplementos em pó)?
 () 1. sim () 2- não. Se sim, qual(is)? _____
- 12- Como você alimenta seu bebê?
 1. () deixa ele comer por si mesmo, com as mãos ou com colher, e fica monitorando
 2. () você ou outro cuidador é que sempre oferece os alimentos na boca dele, com a colher
 3. () você (ou outro cuidador) oferece alguns alimentos com a colher e outros em pedaços para o bebê comer com as mãos

ANOTAR DO PRONTUÁRIO:

- 13- Número de consultas médicas no NAA-SE até o momento: _____
 14- Número de consultas com nutricionista no NAA-SE até o momento: _____

ANEXO D - Antropometria



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
 Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
 Biomédicas - Bairro Sanatório
 CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
 Email: ppgcs.ufs@gmail.com



Antropometria: Avaliar no início do estudo e aos 6, 9, 12 e 18 meses de idade (obs: antropometria da mãe somente no início do estudo)

1ª avaliação: Data: _____

1. Peso da mãe: _____Kg Estatura da mãe:_____cm () aferido ()
referido
2. Peso do pai: _____ kg Estatura da pai: _____cm () aferido ()
referido
3. Peso atual da criança: _____g Estatura atual da criança: _____cm
4. Circunferência cefálica da criança: _____ cm
5. Circunferência braquial da criança: _____ cm

2ª avaliação (aos 6 meses de idade): Data: _____

- a- Peso atual da criança: _____g Estatura atual da criança: _____cm
- b- Circunferência cefálica da criança: _____ cm
- c- Circunferência braquial da criança: _____ cm

3ª avaliação (aos 9 meses de idade): Data: _____

- a- Peso atual da criança: _____g Estatura atual da criança: _____cm
- b- Circunferência cefálica da criança: _____ cm

c- Circunferência braquial da criança: _____ cm

4ª avaliação (aos 12 meses de idade): Data: _____

a- Peso atual da criança: _____ g Estatura atual da criança: _____ cm

b- Circunferência cefálica da criança: _____ cm

c- Circunferência braquial da criança: _____ cm

5ª avaliação (aos 18 meses de idade): Data: _____

a- Peso atual da criança: _____ g Estatura atual da criança: _____ cm

b- Circunferência cefálica da criança: _____ cm

c- Circunferência braquial da criança:

ANEXO E - Termo de consentimento livre e esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR

Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
 Biomédicas - Bairro Sanatório
 CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
 Email: ppgcs.ufs@gmail.com



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Revisado: 01/02/19

Projeto de Pesquisa: Alimentação complementar e comportamento alimentar em lactentes com alergia ao leite de vaca de região de baixa renda

Prezado Sr(a),

Vimos através desta carta convidar você e o seu filho(a) para participarem de um estudo que será realizado no Núcleo de Alergia Alimentar (NAAS) do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Sua participação neste estudo de pesquisa não é obrigatória. Você pode escolher se quer participar deste estudo e, se mais tarde desistir, poderá sair sem se preocupar em perder os benefícios do estudo e do atendimento no NAAS. As pessoas responsáveis pelo estudo são a Dra. Anne Botelho, a Dra. Jackeline Franco, a Dra. Sarah Fontes e o Dr. Ricardo Gurgel, que trabalham no Hospital Universitário da UFS. Estamos realizando este estudo porque precisamos entender se a forma como a criança se alimenta do 6º ao 12º mês de idade influencia no seu comportamento alimentar e no seu estado nutricional, se o tipo de microrganismos presentes nas suas fezes está relacionado à sua nutrição global e se a alergia ao leite de vaca interfere no seu estado nutricional, comportamento alimentar e na qualidade da sua microbiota intestinal. Este estudo durará mais ou menos 12 meses, ou seja, se decidir participar do estudo, seu filho será acompanhado pela equipe do estudo durante 1 ano.

Estamos fazendo este convite porque o seu filho(a) é ou será acompanhado por nós, no NAAS, e está na idade ideal para participar desse estudo. Se você concordar que seu filho(a) participe deste estudo, nós iremos pedir a você que compareça às consultas previamente agendadas com as pediatras, a nutricionista e a enfermeira do estudo para responder algumas perguntas e para que ele(a) seja pesado(a) e medido(a). A programação dos encontros é a seguinte: um encontro hoje, no cadastro do seu filho no estudo, e um encontro quando ele completar 6 e 9 meses de idade. Depois disso, pediremos que volte à consulta com ele(a) quando completar 12 meses e 18 meses de idade. Quando ele fizer 7 e 8 meses de idade, vamos ligar para vocês para fazermos algumas perguntas. Caso não possam responder no momento da ligação, podemos retornar a ligar em momento escolhido por você. Os encontros (consultas) serão no ambulatório do Hospital Universitário da UFS. Em dois momentos (no início e no final do estudo) vamos pedir para colher uma pequena amostra de sangue do seu filho, 10 mL (1 colher de sobremesa) no início do estudo e 10 mL quando ele estiver com 18 meses de idade, caso ele tenha diagnóstico comprovado de alergia ao leite de vaca. Essa amostra de sangue servirá para saber se ele(a) tem deficiência de algum nutriente. Também nestes dois momentos, vamos pedir para colher uma amostra de urina do seu filho. Para isso, vamos te dar um saco de coleta de amostras de urina para uso pediátrico para colhermos a urina no período em que a criança estiver nas consultas. Em dois momentos (no início do estudo e em mais um momento, entre 9 e 12 meses de idade) vamos pedir para colher uma amostra de fezes do seu filho para avaliarmos a composição dos microrganismos (bactérias, fungos e vírus) que habitam no trato gastrointestinal do seu filho. Nós entregaremos um coletor e orientações sobre como fazer a coleta das fezes. Caso seu filho(a) apresente nas fezes algum microrganismo que cause doenças, ele(a) receberá o tratamento específico.

Se ele(a) apresentar deficiência de nutrientes, será prescrito pela nutricionista ou pelas pediatras o suplemento adequado para o tratamento. O sangue será colhido por profissional treinado e experiente em coleta de



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR**

Rua Cláudio Batista S/Nº-Centro de Pesquisas
Biomédicas - Bairro Sanatório
CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/ Fax:(79) 2105-1783
Email: ppgcs.ufs@gmail.com



sangue de crianças pequenas (lactentes). Todos os testes que serão feitos no sangue do seu filho(a) serão para a pesquisa. O sangue não será vendido e o nome do seu filho(a) não aparecerá escrito nos tubos de sangue. Se, após as análises laboratoriais do sangue do seu filho, ainda sobrar sangue, ele ficará guardado mesmo se o estudo estiver acabado. Se em algum momento durante o estudo você quiser as partes do sangue doado pelo seu filho, ou mesmo quiser destruí-los, por favor, entre em contato com a Investigadora Principal, Dra. Anne Jardim Botelho ou com a Co-investigadora Principal, Dra. Jackeline Motta Franco, nos telefones escritos no final desta carta. Em respeito às normas éticas de condução de pesquisa científica no Brasil, você ou sua família não receberão nenhum pagamento para participar desse estudo. Os resultados do estudo ficarão em prontuários individuais que serão abertos para esse estudo. Nesses prontuários ficarão cópias dos resultados dos exames de sangue. Os resultados originais dos exames de sangue serão entregues a você ou a outro responsável legal pela criança.

O teste no sangue poderá causar um pequeno desconforto quando a agulha for colocada no braço. Porém, usaremos anestésico tópico antes da coleta para reduzir esse desconforto. Mais tarde o braço pode ficar com alguma mancha roxa onde a agulha tiver sido colocada, mas isso não acontece com frequência. Em casa, no período pós coleta de sangue, nós recomendamos que você observe o local onde foi tirado o sangue. Se algo te preocupar, por favor nos ligue para que possamos oferecer os cuidados necessários.

Nós guardaremos todos os registros do seu filho(a) em lugar seguro onde ninguém pode ir. Somente em condições especiais as informações podem ser vistas por outras pessoas como aquelas do Comitê de Ética, equipe de estudo, monitores do estudo, auditores e financiador da pesquisa. O nome do seu filho(a) não aparecerá em nenhum lugar.

O benefício de participar deste estudo é o acompanhamento médico e nutricional que seu filho(a) receberá, com avaliação do desenvolvimento corporal dele(a), com o exame de sangue, urina e fezes. Se ele(a) apresentar algum problema nutricional, você receberá orientações a respeito. Se ele(a) tiver um problema no sangue, vocês receberão orientações da equipe do estudo e, caso haja alguma situação mais grave, receberão encaminhamento adequado para exames e avaliação apropriados.

Caso você tenha alguma pergunta sobre os direitos como voluntário de pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, como descrito abaixo:

Universidade Federal de Sergipe (UFS), Ambulatório do Hospital Universitário, Rua Cláudio Batista S/- Bairro Sanatório, Aracaju CEP 49060-100 Tel: 2105-1805

Para perguntas sobre o estudo, você poderá entrar em contato com a Dra. Anne Jardim Botelho no seu telefone: (79) 99191-9010 e com a Dra. Jackeline Motta Franco no seu telefone: (79) 99988-6215.

Eu li e discuti este formulário de consentimento e entendi o conteúdo do material. Minhas perguntas foram respondidas. Eu livremente concordo que meu filho(a) participe deste estudo.

Seu nome _____

Nome da criança: _____

Nome da pessoa da equipe do estudo:

Assinatura:

Data:

☐ Checar se o voluntário está apto a ler

Testemunha: _____

Assinatura:

Data:

ARTIGO ORIGINAL 1 - Submetido

13/11/2023, 02:27

SAGAS

O novo artigo foi submetido com sucesso!

Login: TatiGraça Português English Español



Início	Autor	Consultor	Editor	Mensagens	Sair
--------	-------	-----------	--------	-----------	------

CSP_2063/23

Arquivos	Versão 1 [Resumo]
Seção	Artigo
Data de submissão	13 de Novembro de 2023
Título	Fatores associados ao tempo de aleitamento materno em crianças com alergia ao leite de vaca
Título corrido	Aleitamento materno em crianças com alergia ao leite de vaca
Área de Concentração	Alimentação e Nutrição
Palavras-chave	Aleitamento materno, Desmame, Hipersensibilidade alimentar, Gastroenteropatias
Fonte de Financiamento	PPSUS e FAPITEC/SE
Conflito de Interesse	Nenhum
Condições éticas e legais	No caso de artigos que envolvem pesquisas com seres humanos, foram cumpridos os princípios contidos na Declaração de Helsinki , além de atendida a legislação específica do país no qual a pesquisa foi realizada. No caso de pesquisa envolvendo animais da fauna silvestre e/ou cobaias foram atendidas as legislações pertinentes.
Registro Ensaio Clínico	Nenhum
Sugestão de consultores	Nenhum

Autores	Tatiane Graça Martins (Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe, Universidade Federal de Sergipe) <tatiane.graca@gmail.com> Anne Jardim Botelho (Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), Universidade Federal de Sergipe) <annejbotelho@gmail.com> Jackeline Motta Franco (Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), Universidade Federal de Sergipe) <jmottafranco@hotmail.com> Sarah Cristina Fontes Vieira (Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), Universidade Federal de Sergipe) <sarahcfv@yahoo.com.br> Bruna Franca Protásio (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe) <bpfranca@yahoo.com.br> Diana dos Santos (Núcleo de Alergia Alimentar de Sergipe (NAAS), Universidade Federal de Sergipe) <diana-enf@hotmail.com> Joseilze Santos de Andrade (Departamento de Enfermagem, Universidade Federal de Sergipe) <joseilzesa@gmail.com> Márcia Ferreira Cândido de Souza (Hospital Universitário, Universidade Federal de Sergipe) <nutrimarciacandido@gmail.com> Solange Alves dos Santos (Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe) <solange.alves@ebserh.gov.br> Párcia Marques da Silva Oliveira (Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe) <parciamso@hotmail.com> Ikaro Daniel de Carvalho Barreto (CEBRASPE, Centro Brasileiro de Pesquisa em Avaliação e Seleção e de Promoção de Eventos) <daniel.carvalho.ib@gmail.com> Ricardo Queiroz Gurgel (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe) <ricardoqgurgel@gmail.com>
STATUS	<i>Com Secretaria Editorial</i>

ARTIGO ORIGINAL 2 - Publicado

Acesso em: <https://www.pgghn.org/DOIx.php?id=10.5223/pgghn.2023.26.6.355>

Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2023 Nov;26(6):355-369
<https://doi.org/10.5223/pgghn.2023.26.6.355>
 pISSN 2234-8646-eISSN 2234-8840

Pediatric Gastroenterology,
 Hepatology & Nutrition

pgghn

Original Article



Growth and Nutritional Biomarkers in Brazilian Infants with Cow's Milk Allergy at Diagnosis and 18-Month Follow-Up: A Prospective Cohort Study

Anne Jardim-Botelho ,^{1,2} Tatiane Graça Martins ,^{1,2} Jackeline Motta-Franco ,¹ Rosan Meyer ,^{3,4,5} Sarah Cristina Fontes Vieira ,² Bruna Franca Protásio ,² Milena Letícia Santos Silva ,² Rebecca Silveira Pontes ,² Marcela Barros Barbosa de Oliveira ,² Ikaro Daniel de Carvalho Barreto ,⁶ and Ricardo Queiroz Gurgel ²

¹Reference Center for Food Allergy of Sergipe (RCFAS), Federal University of Sergipe, Aracaju, Brazil

²Graduate Program in Health Sciences, Federal University of Sergipe, Aracaju, Brazil

³Department of Pediatrics, Imperial College, London, Winchester, UK

⁴Department Dietetics, Winchester University, Winchester, UK

⁵Department Medicine, Catholic University of Leuven, Leuven, Belgium

⁶CEBRASPE, Centro Brasileiro de Pesquisa em Avaliação e Seleção e de Promoção de Eventos, Brasília, Brazil

OPEN ACCESS

Received: Dec 8, 2022
 1st Revised: Mar 14, 2023
 2nd Revised: Jul 31, 2023
 Accepted: Aug 3, 2023
 Published online: Oct 30, 2023

Correspondence to

Anne Jardim-Botelho

Reference Center for Food Allergy of Sergipe (RCFAS), Federal University of Sergipe, Rua Cláudio Batista S/N, Sanatório, Aracaju, Sergipe 49065-000, Brazil.
 Email: annejbotelho@gmail.com

Copyright © 2023 by The Korean Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID iDs

Anne Jardim-Botelho
<https://orcid.org/0000-0002-2459-4574>
 Tatiane Graça Martins
<https://orcid.org/0000-0002-2746-3852>
 Jackeline Motta-Franco
<https://orcid.org/0000-0003-3088-492X>

ABSTRACT

Purpose: This study aimed to describe the growth, body protein status, and micronutrient biomarkers of Brazilian infants with cow's milk allergy (CMPA) at baseline and at 18 months of follow-up in comparison with their healthy peers.

Methods: Thirty infants with CMPA younger than six months of age were included in this longitudinal study, and their nutritional status was compared with that of 24 non-allergic age-matched children. Anthropometric measurements were used to assess growth, and blood and urine samples were analyzed for protein and micronutrient status. Mixed linear models adjusted for birth weight, socioeconomic status, infant feeding at baseline, weight-for-age, C-reactive protein, serum albumin, micronutrient dietary supplementation, and salt consumption were employed to evaluate the evolution of nutritional parameters throughout the follow-up period.

Results: Overall, the mean age of the children at enrolment was 2.9 (standard deviation 1.7) months, and 29 children (53.7%) were male. Infants with CMPA showed a higher prevalence of functional iron depletion (transferrin saturation <20) ($p=0.027$), lower serum ferritin ($p=0.009$), and lower urinary iodine ($p=0.034$) levels than non-allergic children at baseline. Patients with CMPA showed a higher increment in weight-for-age and length-for-age over time than those in the control group ($p<0.01$). Mixed linear analyses showed a significantly lower increase in serum vitamin B12 (s-B12) ($p=0.001$) and urinary iodine ($p<0.001$) concentrations over time compared to the control group.

Conclusion: Infants with CMPA on a cow's milk elimination diet had a higher weight and length at 18 months of follow-up but showed signs of inadequate iron, iodine, and B-12 vitamin status.

Keywords: Food hypersensitivity; Anthropometry; Micronutrients; Nutritional status; Vitamin B12 deficiency; Iron deficiencies; Growth; Infant

Rosan Meyer <https://orcid.org/0000-0002-5710-5570>Sarah Cristina Fontes Vieira <https://orcid.org/0000-0002-0830-9657>Bruna Franca Protásio <https://orcid.org/0000-0002-3531-1875>Milena Letícia Santos Silva <https://orcid.org/0000-0002-0838-0998>Rebecca Silveira Pontes <https://orcid.org/0009-0009-3004-207X>Marcela Barros Barbosa de Oliveira <https://orcid.org/0000-0002-2813-1489>Ikaro Daniel de Carvalho Barreto <https://orcid.org/0000-0001-7253-806X>Ricardo Queiroz Gurgel <https://orcid.org/0000-0001-9651-3713>**Funding**

Financial support was received from Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS)/ Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE, Brazil).

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest.

INTRODUCTION

Cow milk protein allergy (CMPA) is one of the most common food allergies in childhood affecting 0.5–3% of infants in developed countries [1]. Although there is a paucity of epidemiological food allergy (FA) data in Brazil, in reference centers 1.9% of children aged 4–23 months have oral food challenge (OFC)-confirmed FA, of whom 1.0% present with CMPA [2].

Some studies on CMPA in developed countries have found that children with food allergies have lower growth parameters, in particular, height-for-age, than healthy infants and a lower intake of micronutrients, which may not necessarily translate into deficiencies [3]. However, studies on height growth in children with FA have produced conflicting results [4–7]. This discrepancy may be attributed to differences in studied populations, including those with IgE- and non-IgE-mediated CMPA, presence of comorbidities, type of elimination diet, duration of follow-up, and age at which CMPA was diagnosed [8–12].

To date, only one study has published a broad evaluation of nutritional biochemical parameters in children aged 0–2 years- on a cow's milk elimination diet. An increased risk of B12 deficiency in breastfeeding infants on a cow's milk elimination diet and iron, zinc, and vitamin D deficiencies was found in all feeding groups [13]. Additionally, Thomasson et al. [14] found that one-third of Norwegian children aged <2 years with suspected CMPA had urine iodine concentrations indicating iodine deficiency. However, as these studies evaluated children from developed countries, extrapolation of these data for children from developing countries may not be reflective, because nutritional deficiencies may also be a result of food insecurity. Therefore, we performed a longitudinal observational study to compare the growth, protein, and micronutrient biomarkers of Brazilian infants with CMPA at diagnosis and 18 months of follow-up with those of a non-allergic control group.

MATERIALS AND METHODS**Study design**

A prospective cohort study comparing the growth, protein, and micronutrient biomarkers of Brazilian infants with CMPA with those of a non-allergic control group was conducted (**Supplementary Fig. 1**). Infants up to six months of age with symptoms of IgE and/or non-IgE-mediated CMPA were prospectively recruited at the Reference Center for Food Allergy of Sergipe (RCFAS), Federal University of Sergipe, Northeastern Brazil, over a 12-month period (February 2019–February 2020). A total of 150 symptomatic children met the inclusion criteria, of whom 30 had OFC-confirmed CMPA. Healthy infants were recruited from a maternity clinic where the mother did not experience any prenatal complications between September 2019 and March 2020, and were placed in the non-allergic control group. A total of 42 healthy children met the inclusion criteria. Of these, 24 agreed to participate.

The exclusion criteria were prematurity, inflammatory bowel disease, growth hormone deficiencies, celiac disease, cystic fibrosis, autoimmune disease, chromosomal abnormalities, developmental delay, and any other presumed or diagnosed chronic diseases.

The RCFAS is a public service of the Unified Health System (Sistema Único de Saúde- SUS) and has a multidisciplinary team and is responsible for the diagnosis of CMPA in all children

from the Sergipe state, with a suspected clinical history based on the recognition of symptom patterns and OFC.

Infants with symptoms suggestive of CMPA underwent open OFC after resolution of the symptoms with an elimination diet performed after 4–8 weeks on a cow's milk exclusion diet, which consisted of extensively hydrolyzed formula (eHF) or amino acid formula (AAF), and/or advising a breastfeeding mother to exclude all cow's milk proteins (CMP) from her diet and to take daily calcium and vitamin D supplementation [15,16]. The OFC was performed under medical supervision according to the PRACTALL guidelines [17]. OFC were not performed in patients with a clinical history of IgE-mediated CMPA with specific serum IgE ≥ 5.17 kUA/L. This cutoff has been found to have an 88% predictive value for positive OFC [18]. Children who did not present with immediate reactions after the OFC were asked to regularly consume cow milk protein for 30 days after the OFC, followed by a physician evaluation. Patients were also advised to return to our allergy center at any time if they presented with delayed CMPA symptoms for clinical evaluation. Children with clinician-confirmed delayed symptoms were also classified as positive for OFC based on clinical criteria.

In the RCFAS, all formula-fed children with OFC-proven CMPA have eHF or AAF through medical prescriptions reimbursed by the local health authority.

The scheduled time for the follow-up study visit at 18 months coincided with that during the COVID-19 pandemic. Although the study participants were still followed-up, this resulted in a larger follow-up loss than expected.

Data collection

Demographic and socioeconomic information, gestational age, mode of delivery, family history of allergies, breastfeeding, use of infant formula, and complementary food and salt consumption were collected using structured questionnaires. These data were included in the multivariate model to adjust for the analyses as appropriate.

Information on ownership of household assets, parental income, water and sanitation were used to construct a wealth index, by using the method of ABEP (Brazilian Association of Research Companies), where 'A' is the highest socioeconomic level and 'E' is the lowest [19].

Weight and length measurements were collected by a trained pediatric dietitian using regularly calibrated equipment according to the anthropometric standardized method defined by the World Health Organization (WHO) [20]. The child's length was measured using a supine length measurement board (Altuxata) with 0.1-cm precision. Weight was measured in children without clothing using a pediatric scale (Welmy) with 5-g precision.

Z-scores were calculated using WHO Anthro software to obtain the child length (LAZ), weight-for-age (WAZ), and weight-for-length (WLZ). Children were classified as stunted if their LAZ was < -2 and were graded as underweight and wasted if their WAZ and WLZ had z-scores < -2 , respectively. In addition, children were classified as having a high weight-for-age if WAZ > 2 and overweight if WLZ > 2 [21].

Blood samples were collected in the morning, following a 4 hours fasting period, upon enrolment and at 18 months of follow-up, in accordance with routine procedures. Nutritional biomarkers were collected as shown in **Supplementary Table 1**, and the reference values

used for this study are listed in the same table. Vitamin B12 deficiency was assessed by the algorithm s-B12 <250 pmol/L and Homocysteine (tHcy) >6.5 µmol/L OR s-B12 <250 pmol/L, and Methylmalonic acid (MMA) >0.28 µmol/L [13,22].

Children with iron and/or vitamin D deficiencies were supplemented according to the Brazilian Pediatric Association guidelines [23-25]. Vitamin B12 deficiency was treated with a high oral dose of cyanocobalamin (1 mg every day for 1 week, then 1 mg every week for 4 weeks) [26-28]. Other nutritional deficiencies were treated individually.

Data analysis

Statistical analyses were performed using the R Core Team 2021 (Version 4.1.0) software, and a 5% significance level was used. The difference-in-differences (DID) estimator in mixed linear models was employed to evaluate the evolution of nutritional parameters from baseline to 18 months of follow-up. The models were adjusted for covariates according to each nutritional biomarker to provide robust results, indicating the true effect of CMPA on nutritional parameters over the 18 months of follow-up. Mixed linear models were adjusted for birth weight; socioeconomic status; infant feeding at baseline; weight-for-age; C-reactive protein, iron, vitamin D, and vitamin B12 dietary supplementation (for children with vitamin B12 deficiency); and salt consumption in complementary foods (for iodine analysis). Serum albumin levels were also included in the adjusted longitudinal analysis of serum calcium levels.

The sample size was established based on repeated measures ANOVA [29] with G*Power 3.1.9.7 software [30]. Considering two groups, two measurements, a 5% significance level, 80% power, and a medium effect size ($f=0.236$) [31], the calculation yielded a requirement for 108 observations, resulting in 27 participants per group.

Ethical approval

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Sergipe (CAAE 97662918.0.0000.5546), and followed the ethical principles of the Declaration of Helsinki. Consent and participation were voluntary, and caregivers were also reassured of the confidentiality of the research.

RESULTS

Description of participants

One hundred and fifty children attended the RCFAS were eligible for inclusion in the study. Of these, 30 children had OFC-confirmed CMPA. We also recruited 24 healthy age-matched infants in the control group, following a frequency-matching protocol according to age. At the end of the study, 30 (55.6%) children were lost to follow-up and 24 children completed the study: 13 (54.2%) from the CMPA group and 11 (45.8%) from the control group ($p=0.536$).

No statistically significant differences were detected at baseline for age, sex, liquid feed including breastmilk and formula, socioeconomic status, and nutritional parameters between children who completed the 18 months of follow-up and those who were lost to follow-up.

More children had non-IgE-mediated gastrointestinal (GI) manifestations of CMPA, with food Protein-Induced Allergic Proctocolitis and food protein-induced Gastroesophageal

Reflux Disease diagnosed in 19 (63.3%) and 10 (33.3%) children, respectively. Acute urticaria/angioedema and anaphylaxis were observed in 2 (6.7%) children and 1 (3.3%) child, respectively.

Overall, the mean age of the children at enrolment was 2.9 (standard deviation [SD] 1.7) months, and 29 children (53.7%) were male (**Supplementary Table 2**). The cow's milk elimination diet was commenced in symptomatic infants at a mean age of 3.2 (1.5) months, and the formal diagnosis occurred at a mean age of 5.4 (SD 2.5) months. In children with a positive OFC for delayed CMPA, the onset of symptoms occurred at a median of 13 days (interquartile range [IQR]: 4–31 days) after the OFC. By the end of the 18-months follow-up, the mean age of the children was 21 ± 3.6 months, and no significant differences in age were detected among the studied groups ($p=0.267$).

The children in both groups predominantly belonged to middle- to low-income families. Twenty-five (46.3%) families earned less than \$200 per month and 42 (77.8%) earned less than \$600 per month. Socioeconomic status and family income of the recruited children did not differ significantly among the study groups ($p=0.086$ and $p=0.076$, respectively). Three (5.6%) recruited children were small for gestational age (1,000–2,499 g); however, it was decided to keep those children in the study, as they had already reached a normal weight and length-for-age when they first attended the RCFAS at baseline.

Infant feeding and anthropometry

One-third of the children with CMPA were not breastfeeding at the beginning of the study, whereas 96% of the non-allergic children were breastfeeding ($p=0.008$) (**Table 1**). At the end of the study, five (29.4%) and 10 (76.9%) children were still breastfeeding in the CMPA and control groups, respectively ($p=0.013$).

At baseline, the daily median intake of infant formula by non-breastfed children was 850 mL (IQR: 760–1,110) in the CMPA group and 758 mL (IQR: 675–840) in the control group ($p=0.533$). By the second year of life, there was still no statistically significant difference ($p=0.703$) in the daily median intake of infant formula in the non-breastfed children in the CMPA group (600 mL [IQR: 420–660]) vs. the control group (430 mL [IQR: 190–960]).

Of the total study population, three children (5.7%) were stunted (LAZ < -2) and three (5.6%) were underweight (WAZ < -2) at baseline. Five (9.3%) children were overweight with a weight-for-length > 2 z-score. No significant differences in baseline anthropometric status were detected between CMPA and non-allergic children (**Table 1**).

By the end of the follow-up, one child (1.9%) was stunted, none were underweight, and three (5.6%) were overweight. Comparing the z-scores from baseline to 18 months at follow-up, a significant increase was observed in weight-for-age and length-for-age in children with CMPA compared with non-allergic children ($p<0.01$) (**Fig. 1, Table 2**).

Nutritional biomarkers

1. Protein and iron status

The baseline total protein, albumin, prealbumin concentrations, and iron biomarkers are shown in **Table 3**. Comparing the protein and iron biomarkers from the baseline to the 18-months follow-up, there was no significant difference between the groups in the DID-adjusted analyses (**Fig. 1, Table 2**).

Nutritional Status in Infants with Cow's Milk Allergy

Table 1. Infant feeding description and anthropometry of studied children at baseline

Infant feeding and anthropometry	All (n=54)	CMPA (n=30)	Control group (n=24)	p-value
Formula feeding at maternity				0.147
Yes	16 (30.2)	11 (37.9)	5 (20.8)	
No	37 (69.8)	18 (62.1)	19 (79.2)	
Breastmilk cessation				0.008
Yes	11 (20.4)	10 (33.3)	1 (4.2)	
No	43 (79.6)	20 (66.7)	23 (95.8)	
Infant nutrition in the beginning of study				0.120
Exclusive breastmilk	31 (57.4)	15 (50.0)	16 (66.7)	
Infant formula*	4 (7.4)	2 (6.7)	2 (8.3)	
Soy formula	1 (1.9)	1 (3.3)	0 (0.0)	
Substitute formula†	5 (9.3)	5 (16.7)	0 (0.0)	
Whole cow's milk	3 (5.6)	2 (6.7)	1 (4.2)	
Breastmilk and infant formula*	7 (13.0)	2 (6.7)	5 (20.8)	
Breastmilk and substitute formula†	3 (5.6)	3 (10.0)	0 (0.0)	
Number of complementary foods				0.935
None	41 (75.9)	22 (73.3)	19 (79.2)	
One food item	5 (9.3)	3 (10.0)	2 (8.3)	
2 to 5 food items	6 (11.1)	4 (13.3)	2 (8.3)	
≥6 food items	2 (3.7)	1 (3.3)	1 (4.2)	
Age of introduction of complementary foods				0.007
None	42 (77.8)	20 (66.7)	22 (91.7)	
<1 mo	3 (5.6)	3 (10.0)	0 (0.0)	0.151
1 to 3 mo	4 (7.4)	3 (10.0)	1 (4.2)	
4 to 5 mo	5 (9.3)	4 (13.3)	1 (4.2)	
Weight-for-age	-0.22 (-0.9/0.5)	-0.5 (-1.0/0.4)	-0.03 (-0.5/0.9)	0.074
Underweight	3 (5.6)	2 (6.7)	1 (4.2)	0.259
Eutrophy	49 (90.7)	28 (93.3)	21 (87.5)	
High weight-for-age	2 (3.7)	0 (0.0)	2 (8.3)	
Length-for-age	-0.64 (1.1)	-0.75 (0.84)	-0.50 (1.4)	0.113
Stunting	3 (5.7)	2 (6.7)	1 (4.3)	0.600
Eutrophy	50 (94.3)	28 (93.3)	22 (95.7)	
Weight-for-length	0.54 (-0.4/1.1)	0.46 (-0.43/0.86)	0.57 (-0.18/1.3)	0.273
Eutrophy	49 (90.7)	28 (93.3)	21 (87.5)	0.393
Overweight	5 (9.3)	2 (6.7)	3 (12.5)	

Values are presented as number (%) or median (interquartile range).

CMPA: cow's milk allergy group.

*Standard formula and partially hydrolyzed cow's milk formula, †Extensively hydrolyzed cow's milk formula, amino acid formula, and hydrolyzed rice formula.

Nineteen (35.2%) children with CMPA received iron supplements at the baseline. No significant differences in iron supplementation were found between the study groups ($p=0.486$) at enrolment or at the end of follow-up ($p=0.556$).

2. B12 and folate status

The baseline serum B12 vitamin, folate, and their biochemical markers are described in **Table 3**. We found B12 deficiency (assessed by the algorithm $s-B12 < 250$ and $tHcy > 6.5$ OR $s-B12 < 250$ and $MMA > 0.28$) in three (12.5%) children with CMPA and none in the control group at baseline. None of the children diagnosed with B12-vitamin deficiency presented with clinically significant neurological signs and symptoms. Only one (1.9%) child was receiving a vitamin B12 supplement at baseline and at the end of follow-up (4%), at a dose of 0.24 and 2 mcg/day, respectively. None of the children received folic acid supplements throughout the study period.

Children in the CMPA group showed a significantly lower increase in serum vitamin B12 concentration over time than those in the control group in the adjusted and non-adjusted DID analyses ($p=0.001$ and 0.008 , respectively) (**Fig. 1, Table 2**).

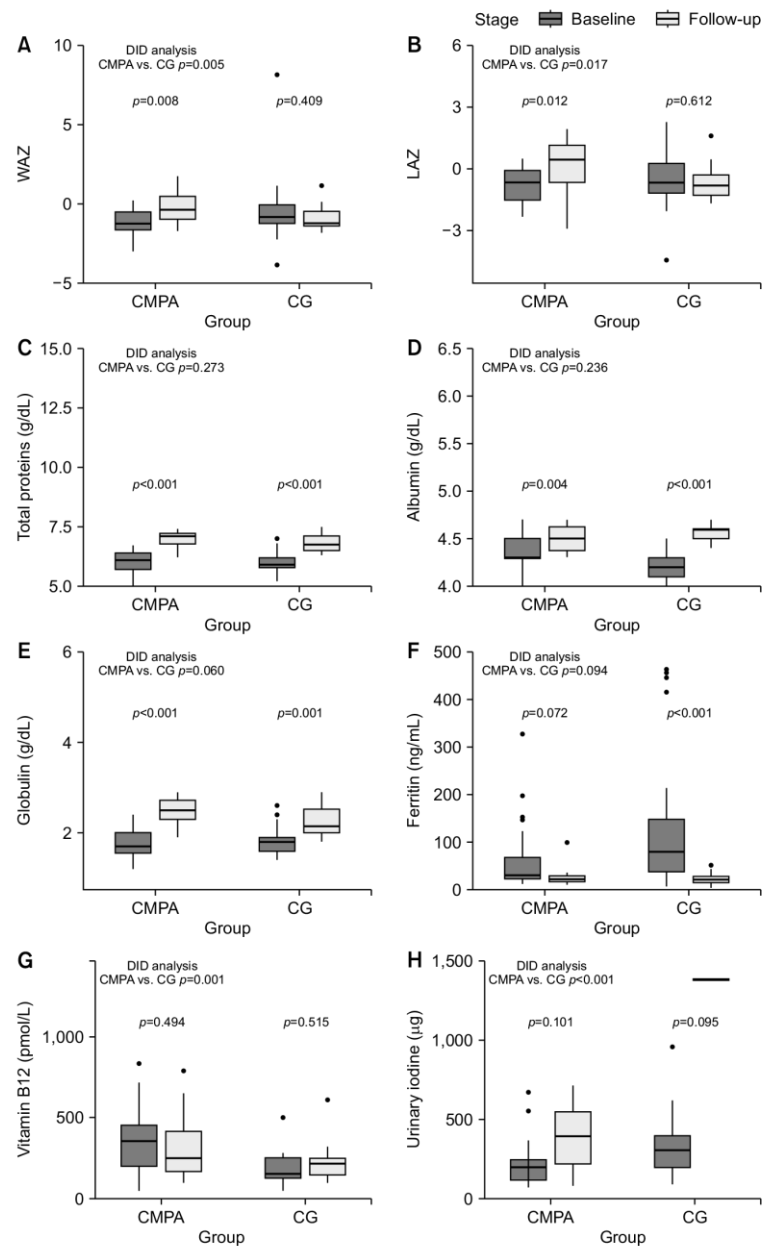


Fig. 1. Longitudinal analyses of anthropometric and nutritional biomarkers. (A) Weight-for-age distribution at baseline and follow-up. (B) Length-for-age distribution at baseline and follow-up. (C) Total protein distribution at baseline and follow-up. (D) Albumin distribution at baseline and follow-up. (E) Globulin distribution at baseline and follow-up. (F) Ferritin distribution at baseline and follow-up. (G) Vitamin B12 distribution at baseline and follow-up. (H) Urinary iodine distribution at baseline and follow-up. DID: difference-in-difference, CMPA: cow's milk protein allergy, CG: control group, WAZ: Weight-for-age z-score, LAZ: length-for-age z-score.

Nutritional Status in Infants with Cow's Milk Allergy

Table 2. Adjusted and unadjusted DID analyses to describe differences in nutritional biomarkers and anthropometry from baseline to 18 months follow-up in cow's milk allergic children compared to control children

Nutritional parameter	Unadjusted (95% CI)	p-value	Adjusted (95% CI)	p-value
Total proteins (g/dL)	0.498 (-0.008-1.005)	0.054	0.374 (-0.295-1.044)	0.273
Albumin (g/dL)	-0.098 (-0.265-0.069)	0.25	-0.128 (-0.341-0.084)	0.236
Globulin (g/dL)	0.609 (0.193-1.025)	0.004	0.531 (-0.022-1.085)	0.06
Prealbumin (mg/dL)	-1.191 (-5.596-3.213)	0.596	-3.265 (-8.268-1.739)	0.201
Hemoglobin (g/dL)	0.460 (-0.586-1.507)	0.389	0.521 (-0.730-1.772)	0.414
Ferritin (ng/mL)	58.727 (-23.455-140.909)	0.161	92.614 (-15.894-201.123)	0.094
Transferrin saturation (%)	0.082 (-14.148-14.313)	0.991	1.377 (-16.958-19.712)	0.883
b-MCV (fL)	2.601 (-3.808-9.011)	0.426	1.436 (-5.707-8.580)	0.694
b-MCH (pg)	1.250 (-0.890-3.390)	0.252	0.654 (-1.799-3.108)	0.601
Vitamin B12 (pmol/L)	-233.306 (-405.508-61.103)	0.008	-325.739 (-523.784-127.694)	0.001
Homocysteine (μmol/L)	0.732 (-2.403-3.867)	0.647	-2.843 (-7.056-1.370)	0.186
Methylmalonic acid (μmol/L)	0.502 (-0.279-1.284)	0.208	0.795 (-0.577-2.166)	0.256
Folate (nmol/L)	3.141 (-1.194-7.475)	0.156	2.886 (-2.442-8.215)	0.288
25-hydroxy-vitamin D (nmol/L)	1.979 (-12.320-16.278)	0.786	4.848 (-13.972-23.667)	0.614
Alkaline phosphatase (U/L)	-136.252 (-565.572-293.068)	0.534	-248.716 (-740.323-242.891)	0.321
Serum calcium (mg/dL)	-0.336 (-1.013-0.341)	0.331	-0.464 (-1.210-0.282)	0.210
Serum phosphorus (mg/dL)	0.618 (-0.243-1.478)	0.159	0.225 (-0.797-1.248)	0.666
Serum magnesium (mg/dL)	-0.082 (-0.237-0.074)	0.305	-0.107 (-0.312-0.097)	0.304
Urinary iodine (μg)	-848.603 (-1,102.455--594.751)	<0.001	-981.948 (-1,371.464--592.432)	<0.001
Weight-for-age	1.168 (0.354-1.983)	0.005	1.511 (0.388-2.634)	0.008
Length-for-age	1.143 (0.208-2.077)	0.017	2.120 (0.850-3.391)	0.001
Weight-for-length	0.796 (-0.022-1.614)	0.056	0.429 (-0.281-1.139)	0.236

DID: difference-in-difference, CI: confidence interval, b-MCV: mean corpuscular volume, b-MCH: mean corpuscular hemoglobin.

3. Bone metabolism biomarkers

The mean baseline 25(OH)D, alkaline phosphatase, calcium, and magnesium levels were normal and no significant differences were observed between the CMPA and control groups (**Table 3**). Forty-two (77.8%) and 11 (45.8%) children received vitamin D supplements at baseline and follow-up assessment, respectively, and no significant differences in this supplementation were found between the studied groups ($p>0.05$).

There were no significant differences in the evolution of bone metabolism biomarkers between the groups from the baseline to the end of the study in the DID analyses (**Table 2**).

4. Iodine status

The median baseline urinary iodine level was normal (218 μg) in both groups, and the control cohort showed significantly higher levels than the children with CMPA (296 vs. 198 μg; $p=0.034$) (**Table 3**). None of the children received iodine supplements either at baseline or at the end of follow-up, except for iodinated salt added to the child's complementary foods from one year of age.

The urinary iodine concentration remained stable throughout the follow-up period in both groups (**Fig. 1**), although children with CMPA presented a significantly lower increase in urinary iodine concentration over time than control children in the DID analyses ($p<0.001$) (**Table 2**).

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first prospective longitudinal study to compare anthropometric measurements and protein/micronutrient biomarkers between infants with

Nutritional Status in Infants with Cow's Milk Allergy

Table 3. Nutritional biomarkers in infants with and without cow's milk allergy at baseline

Nutritional biomarker	All (n=47)		CMPA (n=24)		Control group (n=23)		p-value
	N	95% CI	N	95% CI	N	95% CI	
Total proteins (g/dL)	6.0	0.4	6.0	0.5	5.9	0.4	0.251
Low (<6.0)	22	47.8	9	39 (22–59)	13	57 (37–75)	0.188
Albumin (g/dL)	4.2	4.0–4.3	4.3	4.2–4.5	4.2	4.40–4.3	0.044
Globulin (g/dL)	1.8	0.3	1.7	0.3	1.8	0.2	0.213
Low (<2.3)	43	93.5	22	96 (79–99)	21	91 (73–98)	0.500
Prealbumin (mg/dL)	15.2	3.7	14.9	4.1	15.5	3.4	0.264
Low (<20)	42	91.3	21	91 (73–98)	21	91 (73–98)	0.696
C reactive protein (mg/L)	0.5	0.2–0.9	0.5	0.4–1.0	0.4	0.1–0.8	0.159
Elevated (>3.0)	3	6.7	0	0 (0–15)	3	13 (5–32)	0.125
Hemoglobin (g/dL)	11.2	10.7–11.7	11.2	10.9–11.5	11.2	10.5–12.2	0.624
Anemia	10	21.3	4	17 (7–36)	6	26 (13–46)	0.333
Ferritin (ng/mL)	49.2	23.1–117.2	27.6	20.4–74.2	74.1	36.8–142.9	0.009
Iron deficiency	14	29.8	10	42 (24–61)	4	17 (7–37)	0.066
Transferrin saturation	21.0	14.0–26.5	18.5	14.5–26.0	22	14.0–36.5	0.282
Low (<20)	22	46.8	15	63 (43–79)	7	30 (16–51)	0.027
b-MCV (fL)	81.1	8.6	78.4	7.2	83.9	9.1	0.165
Low	15	31.9	9	38 (21–57)	6	26 (13–46)	0.393
Elevated	1	2.1	1	4 (1–20)	0	0 (0–14)	
b-MCH (pg)	27.0	3.2	26.1	2.8	27.9	3.3	0.359
Low	18	38.8	10	42 (24–61)	8	35 (19–55)	0.427
Vitamin B12 (pmol/L)	314	178–487	354	199–453	146	124–250	0.005
Low (<250)	27	58.7	10	43 (26–63)	17	74 (54–87)	0.036
Homocysteine (μmol/L)	7.2	5.2–8.9	6.2	4.9–7.8	7.9	6.2–9.9	0.039
Hyperhomocysteinemia (>6.5)	28	60.9	11	48 (29–67)	17	74 (54–87)	0.065
Methylmalonic acid (μmol/L)	0.38	0.21–0.60	0.22	0.16–0.42	0.48	0.32–0.79	0.001
Elevated (>0.28)	25	62.5	7	41 (22–64)	18	78 (58–90)	0.019
Vitamin B12 deficiency (algorithm)	3	6.5	3	13 (5–32)	0	0 (0–14)	0.117
Folate (nmol/L)	23.5	17.0–24.8	59.7	45–62	57.9	41–62	0.642
25-hydroxy-vitamin D (nmol/L)	54.0	17.4	143.8	44.3	126.0	41.4	0.747
Deficiency (25 to 50)	1	2.1	0	0 (0–14)	1	4 (1–21)	0.489
Alkaline phosphatase (U/L)	831	696–980	832	726–929	752	682–1,009	0.774
Low (<250)	1	2.1	1	4 (1–20)	0	0 (0–14)	0.378
Elevated (>950)	13	27.7	5	21 (9–40)	8	35 (19–55)	
Serum calcium (mg/dL)	10.8	10.5–11.1	10.7	10.4–11.6	10.8	10.5–10.9	0.724
Elevated (>10.5)	32	68.1	16	67 (47–82)	16	70 (49–85)	0.540
Serum phosphorus (mg/dL)	6.3	6.0–7.0	6.2	5.9–6.4	6.5	6.1–7.5	0.031
Elevated (>7.0)	10	22.2	1	5 (1–22)	9	39 (22–59)	0.006
Serum magnesium (mg/dL)	2.4	2.3–2.5	2.4	2.3–2.5	2.4	2.3–2.4	0.204
Elevated (>2.5)	6	13.0	4	17 (7–37)	2	9 (2–27)	0.333
Urinary iodine (μg)	218	161–341	198	117–245	296	193–397	0.034
Low (<100)	5	12.5	4	19 (8–40)	1	5 (1–25)	0.204

Values are presented as mean (standard deviation) or median (interquartile range).

CMPA: cow's milk protein allergy; CI: confidence interval; b-MCV: mean corpuscular volume; b-MCH: mean corpuscular hemoglobin.

N=46 for total proteins, albumin, globulin, prealbumin, vitamin B12, homocysteine, folate, and serum magnesium; n=45 for serum phosphorus; and n=40 for methylmalonic acid and urinary iodine.

CMPA and nonallergic infants in a developing country. We found that children with CMPA who received a CMP elimination diet had higher rates of both weight gain and length gain than non-allergic children. In addition, children with proven CMPA showed a significant increase in total serum protein, albumin, and globulin levels over the measurement period, similar to that in non-allergic children.

Several cross-sectional studies have demonstrated concerns about longitudinal growth in children with CMPA on an elimination diet [4,6,32]. A feasible explanation for this is a decreased intake of nutrients, especially low intake of energy, protein, calcium, phosphorus, magnesium, zinc, riboflavin, and niacin [4,9,10]. However, in this study, children with CMPA

had a growth status similar to that of the control group at baseline and significantly higher weight-for-age and length-for-age z-scores at the 18-month follow-up.

One possible explanation for this finding is the higher levels of protein in hypoallergenic formulas (1.7–1.9 g/100 mL) when compared to breastmilk and to standard formula (1.2–1.4 g/100 mL). This implies that the protein energy contribution is approximately 10–11%, which is similar to that suggested for catch-up growth [33]. There is a paucity of longitudinal studies describing the anthropometry of children with CMPA compared to that of healthy children from developing countries. A longitudinal study enrolling Thai infants with CMPA, but without a control group, demonstrated a significantly more pronounced improvement in growth in CMP-allergic infants fed with hypoallergenic formula than in those who were breastfed [34]. This finding reinforces our hypothesis that higher protein intake through substitute formulas contributes to higher weight and height increments. In contrast, longitudinal studies of children with CMPA from developed countries that included healthy controls showed that children with CMPA using hypoallergenic formula reached similar (but not higher) weight and height z-scores from baseline to 2 years of age [8,9]. In our study, the higher anthropometric z-scores in CMP-allergic children than in non-allergic children may also be explained by the lower socioeconomic status of both groups of children, as formula-fed children from the CMPA group had free access to substitute formula by a social program for CMPA treatment, which did not occur in healthy children.

Regarding micronutrient biomarkers, children in the control group had significantly lower concentrations of vitamin B12 and higher concentrations of t-Hcy and MMA than those in the CMPA group at baseline. This result may be a reflection of the higher rates of breastfeeding in the control group, as vitamin B12 in breast milk has been found to be positively associated with maternal B12 intake [35], and in lower socioeconomic groups, animal protein consumption is lower because of cost [36,37]. Moreover, infant formulas are enriched with cobalamin and have been found to yield higher serum vitamin B12 and lower t-Hcy levels in formula-fed children [38]. Although not statistically significant, the fact that the formula-fed infants from the control group consumed 430 mL vs. 600 mL in the CMPA group could make this difference.

However, when vitamin B12 status was evaluated using an algorithm that considered vitamin B12 and its biochemical markers t-Hcy and MMA, none of the children in the control group showed B12 deficiency at baseline. In contrast, 13% of the children with CMPA had vitamin B12 deficiency when this algorithm was used. A similar prevalence of vitamin B12 deficiency (12%) was observed by Kvammen et al. [13] in 0–2-year-old Norwegian children undergoing cow milk elimination diet.

This study could not ultimately attribute baseline vitamin B12 deficiency to CMPA, because these levels could also reflect lower newborn endogenous stores associated with mothers. Several studies have shown that the most common etiology of vitamin B12 deficiency in infancy is maternal deficiency in strictly vegetarian mothers or even in non-vegetarian mothers from low socioeconomic populations [39,40]. Maternal food preferences were recorded in this study, with no mothers in either group consuming a vegetarian diet. Although the control group presented with prolonged breastfeeding in the second year of life, children with CMPA showed a significantly lower increase in s-B12 over time, which may be explained by unnoticed and sustained intestinal inflammation, which in turn may affect vitamin B12 absorption [16,41]. This finding underscores the need to consider vitamin B12 deficiencies in young children with CMPA.

The present study also demonstrated that children with CMPA had a higher rate of functional iron depletion and lower ferritin concentrations at baseline than those in the control group. Functional iron depletion, defined as low transferrin saturation, is characterized by the presence of adequate iron stores as defined by conventional criteria, but with insufficient iron mobilization for adequate support, which is commonly related to chronic inflammation [42,43].

The CMPA group presented with a lower initial ferritin concentration over time despite consuming sufficient hypoallergenic iron-fortified formula in non-breastfed children. These findings suggest that bowel permeability dysfunction due to inflammatory processes in children with predominantly non-IgE-GI manifestations of CMPA may contribute to infant iron store depletion prior to treatment [44,45]; however, the elimination diet per se does not guarantee iron store repletion. The volume of iron-fortified formula intake decreased throughout follow-up as the infants' acceptance of complementary foods increased, which may in low-income populations lead to lower intake of iron-rich protein due to the cost of some iron-rich foods [36]. The present study revealed a lower prevalence (19%) of urinary iodine content $<100 \mu\text{g}$ in the CMPA group than that (31%) in Norwegian children younger than 2 years on a cow's milk protein-free diet [14]. Urinary iodine is subject to daily variations according to individual diet and hydration, which limits the interpretation of the nutritional status [14]. Cow milk is an important source of iodine, particularly in young children, where the use of fortified salt is not promoted due to concerns about excessive sodium intake. Further research is required in children with CMPA to establish the iodine status in larger populations.

A limitation of this study is that nutrient intake was not quantified to establish comparisons with the control group. However, the analysis of the amount of daily infant formula intake did not demonstrate significant differences between formula-fed children with and non-allergic. Another limitation of this study was the loss of a relevant number of participants to follow-up, which was mostly due to the COVID-19 pandemic. However, the proportion of children lost to follow-up was similar between groups.

The practical implications of this study are that children with CMPA from a resource-constrained setting may show adequate anthropometric achievement, although they may be at risk of specific micronutrient deficiencies such as iron, vitamin B12, and iodine, which may compromise growth, immune function, and neuromotor development [41,46,47]. This highlights the need for thorough nutritional evaluation as part of clinical practice, including blood assays and dietetic assessment, to investigate micronutrient deficiencies.

In conclusion, Brazilian infants with CMPA who consumed a cow's milk protein elimination diet showed signs of inadequate iron and vitamin B12 nutrition and presented a higher increment in weight and length scores from 0-6 months to 17-22 months of age than nonallergic children predominantly breastfed at a similar age and socioeconomic status.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Fig. 1

Flow diagram of the study design.

[Click here to view](#)

Supplementary Table 2

Cut-offs for the nutritional biomarkers

[Click here to view](#)**Supplementary Table 3**

Demographic and birth characteristics of the study population

[Click here to view](#)**REFERENCES**

1. Flom JD, Sicherer SH. Epidemiology of cow's milk allergy. *Nutrients* 2019;11:1051.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
2. Gonçalves LCP, Guimarães TCP, Silva RM, Cheik MFA, de Ramos Napolis AC, Barbosa ESG, et al. Prevalence of food allergy in infants and pre-schoolers in Brazil. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2016;44:497-503.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
3. Meyer R. Nutritional disorders resulting from food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2018;29:689-704.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Boaventura RM, Mendonça RB, Fonseca FA, Mallozi M, Souza FS, Sarni ROS. Nutritional status and food intake of children with cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2019;47:544-50.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
5. Medeiros LC, Speridião PG, Sdepanian VL, Fagundes-Neto U, Morais MB. [Nutrient intake and nutritional status of children following a diet free from cow's milk and cow's milk by-products]. *J Pediatr (Rio J)* 2004;80:363-70. Portuguese.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Vieira MC, Morais MB, Spolidoro JVN, Toporowski MS, Cardoso AL, Araujo GTB, et al. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. *BMC Pediatr* 2010;10:25.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Meyer R, De Koker C, Dziubak R, Venter C, Dominguez-Ortega G, Cutts R, et al. Malnutrition in children with food allergies in the UK. *J Hum Nutr Diet* 2014;27:227-35.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Berni Canani R, Leone L, D'Auria E, Riva E, Nocerino R, Ruotolo S, et al. The effects of dietary counseling on children with food allergy: a prospective, multicenter intervention study. *J Acad Nutr Diet* 2014;114:1432-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Dong P, Feng JJ, Yan DY, Lyu YJ, Xu X. Children with cow's milk allergy following an elimination diet had normal growth but relatively low plasma leptin at age two. *Acta Paediatr* 2018;107:1247-52.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
10. Paganus A, Juntunen-Backman K, Savilahti E. Follow-up of nutritional status and dietary survey in children with cow's milk allergy. *Acta Paediatr* 1992;81:518-21.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Vandenplas Y, Dupont C, Eigenmann P, Heine RG, Høst A, Järvi A, et al. Growth in infants with cow's milk protein allergy fed an amino acid-based formula. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2021;24:392-402.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Setiabudiawan B, Sitaresmi MN, Sapartini G, Sumadiono, Citraresmi E, Sekartini R, et al. Growth patterns of indonesian infants with cow's milk allergy and fed with soy-based infant formula. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2021;24:316-24.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Kvammen JA, Thomassen RA, Eskerud MB, Rugtveit J, Henriksen C. Micronutrient status and nutritional intake in 0- to 2-year-old children consuming a cows' milk exclusion diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018;66:831-7.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

14. Thomassen RA, Kvammen JA, Eskerud MB, Júlíusson PB, Henriksen C, Rugtveit J. Iodine status and growth in 0-2-year-old infants with cow's milk protein allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64:806-11.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
15. Luyt D, Ball H, Makwana N, Green MR, Bravin K, Nasser SM, et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2014;44:642-72.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
16. Venter C, Brown T, Meyer R, Walsh J, Shah N, Nowak-Węgrzyn A, et al. Better recognition, diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy: iMAP-an international interpretation of the MAP (Milk Allergy in Primary Care) guideline. *Clin Transl Allergy* 2017;7:26.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
17. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:1260-74.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Franco JM, Pinheiro A, Vieira SCF, Barreto IDC, Gurgel RQ, Cocco RR, et al. Accuracy of serum IgE concentrations and papule diameter in the diagnosis of cow's milk allergy. *J Pediatr (Rio J)* 2018;94:279-85.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
19. Pilli L, Ambrósio B, Suzzara B, Pontes L, Reis M, Yamakawa P, et al. Critério de classificação econômica Brasil [Internet]. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa; 2023 [cited 2023 Mar]. Available from: https://dlwqtxst1xzl7.cloudfront.net/48356646/CCE-libre.pdf?1472304094=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DABEP_Associacao_Brasileira.pdf&Expires=1696929221&Signature=gHif2-KsE7QYK1cNoUOUdt-r7g1KOCrBmN-Ji7a9khD3NwWKBLOcFtrADURnKyvBNM1J3273aAHg07NyA3NLhGNdGfey-nggmMcFCfycjQFFOYcAyclRxQKP8bcuyAWVQU4VNFs41QIbE6FNeUslyFV96IpScul1fOK9ROCOqiHU4CcrHAEWKO~8-R3tXyPRXb1dmdQe56-K5Kwy5-D-IEflpSk9iLOHAht5zXUX-aHCWo9BJQhWBCNMir3sX0JjYDxfEQ70qvUkn5uu~IdtYhxUTyQq1sxxNjokpRqM44DB74KM-WP7ZHqFlixv-iRfTclnTsPUXirMY2FdX5u5rw__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA.
20. World Health Organization (WHO). Expert Committee on Physical status: the use and interpretation of anthropometry. World Health Organization; 1995.
21. WHO Multicentre Growth Reference Study Group, and Mercedes de Onis. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl* 2006;95:76-85.
[CROSSREF](#)
22. Harrington DJ. Laboratory assessment of vitamin B12 status. *J Clin Pathol* 2017;70:168-73.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
23. Sarni ROS, Mattos AP, Brasil ALD, de Almeida CAN, de Mello ED, Lopez FA, et al. Anemia carencial ferropriva. Sociedade Brasileira de Pediatria, 2007.
24. Mori JD, de Souza FIS, Munekata RV, Fonseca FLA, Sarni ROS. Deficiência de vitamina D em crianças e adolescentes obesos. *Rev Bras Nutr Clin* 2015;30:116-9.
25. Weffort VRS, Escrivão MAMS, Oliveira FLC, Rocha HF, de Mello ED, de Mattos ÂP, et al. Manual de orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola. 2nd ed. Sociedade Brasileira de Pediatria, 2012. p. 148.
26. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013;368:2041-2.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
27. Akcaboy M, Malbora B, Zorlu P, Altinel E, Oguz MM, Senel S. Vitamin B12 deficiency in infants. *Indian J Pediatr* 2015;82:619-24.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
28. Garcia CP, Cardoso AL, Carneiro JDA, Macedo ACL. Deficiência de vitamina B12 em lactente alimentado com leite materno. *Rev Bras Nutr Clin* 2009;25:264-6.
29. Machin D, Campbell MJ, Tan SB, Tan SH. Sample sizes for clinical, laboratory and epidemiology studies. 4th ed. John Wiley & Sons, 2018.
30. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods* 2009;41:1149-60.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
31. Lovakov A, Agadullina ER. Empirically derived guidelines for effect size interpretation in social psychology. *Eur J Soc Psychol* 2021;51:485-504.
[CROSSREF](#)
32. Christie L, Hine RJ, Parker JG, Burks W. Food allergies in children affect nutrient intake and growth. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1648-51.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

33. Joint FAO; World Health Organization. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. World Health Organization, 2007.
34. Trakulpark C, Densupsoontorn N. Twelve-month growth and accession of tolerance in infants with cow's milk protein allergy compared among those fed with breast milk or alternative formulae. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2021. doi: 10.12932/AP-300720-0933 [Epub ahead of print].
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
35. Dror DK, Allen LH. Vitamin B12 in human milk: a systematic review. *Adv Nutr* 2018;9(suppl_1):358S-66S.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
36. de Orçamentos Familiares. IBGE Pesquisa. Familiares 2017–2018: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento; 2020.
37. Khusun H, Februhartanty J, Anggraini R, Mognard E, Alem Y, Noor MI, et al. Animal and plant protein food sources in Indonesia differ across socio-demographic groups: Socio-Cultural Research in Protein Transition in Indonesia and Malaysia. *Front Nutr* 2022;9:762459.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
38. Karademir F, Suleymanoglu S, Ersen A, Aydinöz S, Gultepe M, Meral C, et al. Vitamin B12, folate, homocysteine and urinary methylmalonic acid levels in infants. *J Int Med Res* 2007;35:384-8.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
39. Dror DK, Allen LH. Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: current knowledge and possible mechanisms. *Nutr Rev* 2008;66:250-5.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
40. Ulak M, Chandyo RK, Thorne-Lyman AL, Henjum S, Ueland PM, Midttun Ø, et al. Vitamin Status among Breastfed Infants in Bhaktapur, Nepal. *Nutrients* 2016;8:149.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
41. Serin HM, Arslan EA. Neurological symptoms of vitamin B12 deficiency: analysis of pediatric patients. *Acta Clin Croat* 2019;58:295-302.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
42. Przybyłowski P, Wasilewski G, Golabek K, Bachorzewska-Gajewska H, Dobrzycki S, Koc-Zorawska E, et al. Absolute and functional iron deficiency is a common finding in patients with heart failure and after heart transplantation. *Transplant Proc* 2016;48:173-6.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
43. Weffort VRS, Maranhão HS, Mello ED, barreto JR, Fisberg M, Moretzsohn MA, et al. Manual de Avaliação Nutricional da criança e do adolescente. Sociedade Brasileira de Pediatria, 2021.
44. Lai FP, Yang YJ. The prevalence and characteristics of cow's milk protein allergy in infants and young children with iron deficiency anemia. *Pediatr Neonatol* 2018;59:48-52.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
45. Järvinen KM, Konstantinou GN, Pilapil M, Arrieta MC, Noone S, Sampson HA, et al. Intestinal permeability in children with food allergy on specific elimination diets. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24:589-95.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
46. Balasundaram P, Avulakunta ID. Human growth and development [Internet]. StatPearls Publishing; 2023 Jan [cited 2023 Mar 8]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567767/>
47. Venter C, O'Mahony L. Immunonutrition: The importance of a new European Academy of Allergy and Clinical Immunology working group addressing a significant burden and unmet need. *Allergy* 2021;76:2303-5.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
48. Domellöf M, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Fewtrell M, et al. Iron requirements of infants and toddlers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:119-29.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
49. Nowak S, Wang H, Schmidt B, Jarvinen KM. Vitamin D and iron status in children with food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;127:57-63.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
50. Carvalho CN, Miranda VMM, Fontoura MSH, Fonseca SF, Acosta AX. (coordenadores e editores). Manual de condutas médicas. In: Brandão C, ed. Intervalos de referência (normalidade) para testes laboratoriais em pediatria. Universidade Federal da Bahia, 2005:114-7.
51. Bjørke-Monsen AL, Torsvik I, Saetran H, Markestad T, Ueland PM. Common metabolic profile in infants indicating impaired cobalamin status responds to cobalamin supplementation. *Pediatrics* 2008;122:83-91.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

52. de Benoist B. Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. *Food Nutr Bull* 2008;29(2 Suppl):S238-44.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
53. Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Domellof M, Fewtrell M, et al. Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;56:692-701.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
54. Andersson M, de Benoist B, Delange F, Zupan J Prevention and control of iodine deficiency in pregnant and lactating women and in children less than 2-years-old: conclusions and recommendations of the Technical Consultation. *Public Health Nutr* 2007;10:1606-11.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
55. Morkbak AL, Poulsen SS, Nexø E. Haptocorrin in humans. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1751-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
56. Monsen AL, Refsum H, Markestad T, Ueland PM. Cobalamin status and its biochemical markers methylmalonic acid and homocysteine in different age groups from 4 days to 19 years. *Clin Chem* 2003;49:2067-75.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
57. Calixto-Lima L, Reis NT. Interpretação de exames laboratoriais aplicados à nutrição clínica. Editora Rubio, 2012.