

Indicadores do estado nutricional de vitamina A

Indicators of the nutritional state of vitamin A

ABSTRACT

NETTO, M. P.; PRIORE, S. E.; FRANCESCHINI, S. C. C. Indicators of the nutritional state of vitamin A. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 31, n. 1, p. 127-150, abr. 2006.

The magnitude of vitamin A deficiency found in Brazil makes it important to learn about its nutritional status indicators, as well as their advantages and disadvantages for diagnosis. Thus, a literature review was conducted by means of Medline database and international publications, with articles dealing with the nutritional status evaluation of vitamin A being selected. This literature review revealed that when choosing an indicator, it is necessary to consider that all methods will present advantages and disadvantages, and that this choice will depend on the purpose of its use (whether individual or populational). In addition, the cost, time, equipment and training must be taken into consideration.

**Keywords: Vitamin A.
Nutrition assessment. Child.**

**MICHELE PEREIRA
NETTO¹; SILVIA ELOIZA
PRIORE²; SYLVIA DO
CARMO CASTRO
FRANCESCHINI²**

¹Mestranda, Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa.

²Docente do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Campos Universitário, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil.

Endereço para correspondência:
Sylvia do Carmo Castro Franceschini.
E-mail: sylvia@ufv.br

RESUMEN

Ante la magnitud de la deficiencia de vitamina A adquiere importancia el conocimiento de los indicadores del estado nutricional en vitamina A y sus ventajas y desventajas para el diagnóstico. Fue realizado un levantamiento bibliográfico utilizando para consulta la base de datos Medline y publicaciones de organizaciones internacionales, seleccionándose los artículos que trataban de la evaluación del estado nutricional en vitamina A. Los estudios muestran que todos los indicadores presentan ventajas y desventajas y la elección del indicador más adecuado depende de la finalidad de su utilización (individual o para poblaciones), el costo, el tiempo, los instrumentos y la habilitación necesaria para su implantación.

**Palabras clave: Vitamina A.
Evaluación nutricional. Niños.**

RESUMO

Diante da magnitude da deficiência de vitamina A nota-se a importância de conhecer os indicadores do estado nutricional de vitamina A e, suas vantagens e desvantagens para o diagnóstico. Assim, um levantamento bibliográfico mediante consulta às bases de dados Medline e publicações de organismos internacionais foi feito e, selecionou-se as publicações científicas que tratavam sobre avaliação do estado nutricional de vitamina A. Percebeu-se, nesta revisão, que na escolha do indicador deve-se considerar que todo método apresentará vantagens e desvantagens e, a escolha do indicador mais adequado para cada ocasião dependerá do objetivo de seu uso (individual ou populacional), devendo ainda levar em consideração o custo, o tempo, os equipamentos e o treinamento necessário para sua realização.

**Palavras-chave: Vitamina A.
Avaliação nutricional. Criança.**

INTRODUÇÃO

A vitamina A é um micronutriente essencial para muitos processos metabólicos, como a diferenciação celular, a visão, a integridade do sistema imunológico, a manutenção e renovação de epitélios, sendo de especial importância durante o crescimento e desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Sua deficiência está associada com um aumento da morbi-mortalidade por doenças infecciosas e, a deficiência grave pode levar a problemas de visão, que em casos mais graves chegam a cegueira total (BATES, 1995).

Estima-se que 2,8 milhões de pré-escolares no mundo estão em risco de cegueira devido à deficiência de vitamina A (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Diante da magnitude desta deficiência percebe-se a importância de conhecer os indicadores do estado nutricional de vitamina A que podem ser utilizados no diagnóstico desta deficiência.

Os indicadores mais utilizados são os biológicos, entre eles estão: clínico (xerofthalmia); funcional (cegueira noturna); bioquímico (retinol sérico, concentração de vitamina A no leite materno, proteína ligadora de retinol, teste de resposta relativa à dose, teste de resposta relativa à dose modificado e teste de resposta sérica de 30 dias), e histológico (citologia de impressão conjuntival e citologia de impressão com transferência) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Cabe destacar que cada método é útil na identificação de diferentes populações, sendo assim, cada um apresenta vantagens e limitações (FAO/WHO, 2001).

O objetivo desta revisão foi descrever os indicadores biológicos de avaliação do estado nutricional de vitamina A, e discutir as suas principais vantagens e desvantagens.

METODOLOGIA

Foi feito um levantamento bibliográfico mediante consulta às bases de dados Medline (base de dados de literatura internacional, produzido pela US National Library of Medicine - NLM) e publicações de organismos internacionais, e selecionando-se as publicações científicas que tratavam sobre a avaliação do estado nutricional de vitamina A.

INDICADORES

CLÍNICO

Xerofthalmia

A xerofthalmia inclui todos os sinais oculares resultantes da deficiência de vitamina A. A Organização Mundial da Saúde classifica as manifestações oculares de acordo com a gravidade dos sinais clínicos produzidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Na tabela 1, observa-se a classificação da xerofthalmia e as prevalências mínimas para definir a deficiência de vitamina A como importante problema de saúde pública

em crianças menores de seis anos, de acordo com as recomendações da World Health Organization (1996).

Tabela 1 - Classificação da xeroftalmia e prevalência mínima em crianças menores de seis anos para definir a deficiência de vitamina A como problema de saúde pública

Classificação	Indicador	Prevalência mínima
XN	Cegueira noturna	1%
X1A	Xerose conjuntival	Não usado
X1B	Mancha de Bitot's	0,5%
X2	Xerose corneal	0,01%
X3A	Ulceração corneal/queratomalácea < 1/3 da superfície corneal	0,01%
X3B	Ulceração corneal/queratomalácea ≥ 1/3 da superfície corneal	0,01%
XS	Cicatriz corneal	0,05%
XF	Fundo xeroftálmico	Não usado

Fonte: ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (1996).

A cegueira noturna é considerada um indicador funcional do estado nutricional de vitamina A e será discutida em seguida.

A metaplasia queratinizante do epitélio conjuntival, com o desaparecimento das células mucínógenas e a conseqüente instabilidade do filme lacrimal, causam a xerose conjuntival, que se caracteriza por uma conjuntiva sem brilho e transparência, sofrendo um processo de espessamento e endurecimento. Em função da subjetividade do sinal clínico, a xerose da conjuntiva, como critério isolado, não tem valor no diagnóstico da xeroftalmia. Além disso, a conjuntiva ocular é um sítio freqüentemente acometido por outras alterações morfológicas que podem diminuir ainda mais o poder de discriminação do sinal clínico no diagnóstico da xeroftalmia (DINIZ; SANTOS, 2000). Assim, a xerose conjuntival não é utilizada para definir a deficiência de vitamina A como problema de saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). A xerose conjuntival começa a reduzir em dois a cinco dias após o início do tratamento (SOMMER, 1995).

A mancha de Bitot, geralmente ocorre na fase da xerose conjuntival pelo depósito de material espumoso ou caseoso, resultante do acúmulo de células epiteliais descamadas e bacilos saprófitos (SOMMER, 1995). São formações ovaladas ou triangulares, concentradas ou dispersas, presentes na região temporal e nasal da conjuntiva bulbar (DINIZ; SANTOS, 2000). As manchas de Bitot podem ser reconhecidas com facilidade e servem como critério clínico para avaliar o estado nutricional de vitamina A. Este sinal clínico também começa a reduzir em dois a cinco dias após o início do tratamento (SOMMER, 1995).

O declínio na produção do muco confere à córnea um aspecto áspero, seco, enrugado e sem brilho, expresso pelo sinal clínico de xerose corneal. O epitélio queratinizado é extremamente vulnerável, e a região inferior da córnea, por ser uma área mais exposta e, por conseguinte, mais desprotegida, pode sofrer um processo erosivo, com destruição do epitélio corneano (DINIZ; SANTOS, 2000). A xerose corneal é facilmente diagnosticada, e, é um sinal extremamente específico da deficiência de vitamina A, que responde ao tratamento entre dois a cinco dias, recuperando o aspecto normal da córnea em uma a duas semanas (SOMMER, 1995).

Em seguida, ocorre a queratomalácea e ulceração corneal resultante da destruição permanente de uma parte ou da totalidade do estroma corneal, dando uma alteração estrutural permanente. Inicialmente, o processo se dá pela formação de uma úlcera corneal, geralmente única, de forma arredondada ou ovalada, com bordas bem definidas. A quebra da integridade da barreira anatômica, ocasionada pela formação ulcerosa, favorece a liberação de enzimas proteolíticas que, provocam um quadro de necrose do estroma corneano, caracterizando a queratomalácea. Quando a ulceração e queratomalácea afetam menos que 1/3 da superfície da córnea (X3A), se iniciado o tratamento prematuramente, consegue-se conservar uma visão útil. A lesão mais ampla (X3B), em particular a necrose generalizada, provoca perfuração e extrusão do conteúdo intra-ocular e, conseqüentemente a perda da visão. Estas lesões são facilmente detectadas e são específicas da deficiência de vitamina A (SOMMER, 1995).

As seqüelas cicatrizadas de uma afecção corneal anterior relacionada à carência de vitamina A compreendem opacidades ou cicatrizes de densidade variável, e são conhecidas como cicatrizes corneais, entretanto, não são específicas da xerofthalmia, podendo ocorrer em muitos outros transtornos, especialmente traumatismos e infecções. Por não ser um sinal específico da deficiência de vitamina A, deve-se analisar o exame com cautela e obter história clínica detalhada para maior confiabilidade na interpretação do resultado (SOMMER, 1995).

As pequenas lesões retinianas brancas descritas em alguns casos de carência de vitamina A são chamadas de fundo xeroftálmico; estas lesões podem vir acompanhadas de redução do campo visual e, na maioria das vezes desaparecem em dois a quatro meses de tratamento com vitamina A (SOMMER, 1995). Entretanto, não são utilizadas para definir a deficiência de vitamina A como problema de saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Wasantwisut (2002) concluiu que os indicadores clínicos do estado nutricional de vitamina A são importantes indicadores da evolução de programas de intervenção com esta vitamina.

Os indicadores clínicos do estado nutricional de vitamina A apresentam maior fidedignidade no diagnóstico da deficiência, entretanto é importante ressaltar que alguns sinais não são exclusivos da hipovitaminose e, ainda, dificuldades na avaliação e padronização dos sinais são comuns (DINIZ; SANTOS, 2000). Há de se destacar ainda, que os sinais clínicos aparecem já com a deficiência instalada, ou seja, fazem o diagnóstico

da deficiência tardiamente, e, portanto são bons indicadores em regiões de altas prevalências da hipovitaminose A (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

FUNCIONAL

Cegueira noturna

A habilidade da retina, em se adaptar ao escuro, depende do adequado suprimento de vitamina A, pois o 11-cis-retinal faz parte da molécula de rodopsina que é essencial para a visão em baixa luminosidade. Desta forma, na deficiência de vitamina A o processo de adaptação ao escuro fica prejudicado, resultando em cegueira noturna (FAO/WHO, 2001).

Para se avaliar a cegueira noturna podem-se utilizar diferentes protocolos (CONGDON; WEST, 2002). Um destes protocolos é através de entrevistas, no qual se investiga a dificuldade de visão no escuro ou à noite através de questões simples, para tal necessita-se de entrevistadores treinados e padronização nas técnicas de entrevista para reduzir o número de falsos positivos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Outros protocolos utilizados, na avaliação da cegueira noturna, são os testes de adaptação ao escuro, dentre estes existem os testes convencionais que demoram cerca de trinta minutos para garantir a completa adaptação ao escuro, e os testes rápidos de adaptação que levam cerca de dois a três minutos para serem realizados; sendo que estes últimos têm mostrado resultados conflitantes (CONGDON; WEST, 2002). É um importante indicador do estado nutricional de vitamina A, pois pode ser diagnosticada precocemente e, portanto poupar a população dos prejuízos que esta deficiência acarreta em nível clínico.

Uma das limitações do uso da cegueira noturna, avaliada através de entrevistas, como método diagnóstico refere-se à dificuldade de obtenção de dados confiáveis em crianças muito jovens, as quais constituem o grupo de maior risco a cegueira nutricional (SOMMER, 1995). As pessoas que serão submetidas ao teste devem estar capacitadas para cooperar com os mesmos, por isso o nível educacional do público-alvo é importante de ser avaliado se este for o teste escolhido para avaliação do estado nutricional de vitamina A (McLAREN; FRIGG, 2001). Outra limitação é a subjetividade do indicador, o qual leva maior susceptibilidade de erros de classificação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Já para os testes de adaptação ao escuro, existem equipamentos padronizados para avaliação da cegueira noturna, algumas versões inclusive são adaptadas para trabalhos de campo (McLAREN; FRIGG, 2001). O teste de restauração da visão (vision restoration time – VRT) verifica a habilidade para reconhecer letras sob baixos níveis de iluminação, entretanto seus resultados não são conclusivos e, necessita-se que as crianças que serão submetidas ao teste sejam alfabetizadas (McLAREN; FRIGG, 2001).

Outro teste utilizado, na avaliação da cegueira noturna, é o teste de limiar pupilar (pupillary threshold), o qual se baseia no fato de que o limiar mais fraco à luz visível em

peessoas com cegueira noturna ocorre aproximadamente na mesma intensidade da necessidade de contração pupilar, ou seja, as pupilas de pessoas deficientes não reagem em baixa iluminação. As principais vantagens na utilização deste teste são as facilidades de realização em crianças jovens, não são testes invasivos e são sensíveis na fase sub-clínica da deficiência (McLAREN; FRIGG, 2001).

A cegueira noturna pode ser um instrumento útil para avaliação em comunidades, especialmente em áreas onde o risco de deficiência de vitamina A é maior, além disso, a prevalência de cegueira noturna pode ser usada para o mapeamento de áreas onde faz-se necessária uma intervenção e, para avaliação da efetividade de programas de intervenção (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Fávaro et al. (1986) compararam o teste de adaptação ao escuro aos níveis plasmáticos de retinol e, não encontraram correlação entre os dois métodos. Sanchez et al. (1997) observaram que à medida que o retinol plasmático reduzia, os escores do teste adaptação aumentavam significativamente, ou seja, havia menor sensibilidade ao retinal. Congdon et al. (1995) encontraram que as crianças com escores anormais para o teste de adaptação ao escuro apresentavam maior média de resposta relativa à dose (RDR).

Congdon et al. (2000) concluíram, através de um estudo realizado com gestantes e nutrízes no Nepal, que o teste de adaptação ao escuro é fortemente correlacionado ao retinol plasmático e aumenta significativamente em resposta a suplementação com vitamina A.

Christian (2002) recomenda a utilização da cegueira noturna durante a gestação como ferramenta de avaliação da deficiência de vitamina A na população, visto que se associa fortemente com baixos níveis séricos e baixa concentração desta vitamina no leite materno, anormal impressão citológica e prejuízo na adaptação ao escuro.

Estudo realizado com crianças e mulheres da Tanzânia não observou diferenças nas concentrações de retinol sérico entre os grupos que apresentavam ou não cegueira noturna; os autores concluíram portanto, que a cegueira noturna se constituiu como um pobre indicador do estado nutricional de vitamina A (WEDNER et al., 2004).

Wasantwisut (2002) conclui que a incidência ou prevalência da cegueira noturna e os indicadores funcionais são importantes indicadores da evolução de programas de intervenção.

A cegueira noturna é revertida rapidamente, habitualmente entre vinte quatro e quarenta e oito horas depois do tratamento com vitamina A (SOMER, 1995).

A World Health Organization (1996) sugere que a interpretação de cegueira noturna em crianças de 24 a 71 meses seja: menor que 1% - problema de saúde pública leve; entre 1% e 5% - moderado e maior ou igual a 5% - grave.

Percebe-se que a avaliação da deficiência de vitamina A através da cegueira noturna pode ser um indicador confiável do estado nutricional de vitamina A desde que se

considerem as limitações de cada teste. Assim o protocolo de entrevistas poderá ser utilizado com populações de nível de escolaridade e idade adequados para a cooperação durante as entrevistas, já o teste de restauração da visão só poderá ser utilizado com populações alfabetizadas; há de se destacar ainda a necessidade de equipamentos e pessoal treinado para a utilização destas técnicas.

BIOQUÍMICOS

Os indicadores bioquímicos são de grande importância e amplamente utilizados em estudos epidemiológicos, pois, permitem a detecção de casos precoces da deficiência (RAMALHO; SAUNDERS, 2003). Ou seja, têm papel fundamental no diagnóstico da primeira etapa de deficiência da vitamina A.

Wasantwisut (2002) considera que os indicadores bioquímicos, a prevalência de crianças pré-escolares com concentração de retinol sérico menor que 20µg/dL, prevalência de lactantes com concentração de vitamina A no leite materno menor que 6µg/g de gordura do leite são importantes indicadores da evolução de programas de intervenção de vitamina A.

Retinol sérico

A concentração de retinol reflete o estado nutricional de vitamina A, particularmente quando as reservas corporais desta vitamina são limitadas. No entanto, a concentração sérica de retinol é controlada homeostaticamente e pode não reduzir até que haja comprometimento dos estoques corporais (PEE; DARY, 2002). Assim, o retinol sérico é um indicador confiável para o diagnóstico da deficiência de vitamina A apenas quando os estoques estão baixos ou depletados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A concentração sérica de retinol reduz durante a infecção aguda, mas em poucos dias após a infecção volta aos níveis normais, sendo assim, esta passageira redução não reflete a depleção dos estoques do fígado e, portanto, pode interferir no uso do retinol sérico para avaliação do estado nutricional de vitamina A (STEPHENSEN et al., 2002). A redução deve-se ao fato da proteína transportadora do retinol (RBP) ser uma proteína de fase aguda negativa e estar reduzida durante processos infecciosos. A concentração de retinol pode estar reduzida também na desnutrição protéica (PEE; DARY, 2002). Além disso, o retinol é instável quando exposto ao calor e a luz, e as técnicas utilizadas para quantificar a concentração sérica requer equipamentos caros como o HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) ou Espectrofotômetro, sendo o primeiro, embora mais caro, o método de escolha devido a sua alta especificidade e sensibilidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Mesmo com estas importantes desvantagens, a concentração sérica de retinol é o indicador mais empregado para avaliar e identificar populações em risco de deficiência

de vitamina A, pois o único indicador melhor que o retinol sérico é a avaliação das reservas hepáticas através da biópsia do fígado, o qual apresenta limitações óbvias para sua realização (RAMALHO; SAUNDERS, 2003).

Stephensen e Gildengorin (2000) sugerem o uso da proteína C reativa para identificar os indivíduos que passam por processos infecciosos, e reduzir o número de falsos positivos.

No estudo de Adelekan et al. (2003), com neonatos nigerianos, observou-se correlação negativa entre retinol e proteínas de fase aguda apenas após o sexo dia de nascimento; os autores concluíram que, em neonatos, a concentração de retinol tem baixa correlação com a infecção. Para Maqsood et al. (2004) a exclusão dos indivíduos com proteínas de fase aguda elevada acarretam viés da amostragem e subestimação da prevalência de hipovitaminose A, e destacam a necessidade de desenvolver métodos imparciais para estimar a prevalência desta deficiência.

O ponto de corte utilizado para o diagnóstico da deficiência de vitamina A tem sido motivo de controvérsias, nas últimas duas décadas (RAMALHO; SAUNDERS, 2003). Em 1989, as concentrações séricas de retinol inferiores a 10µg/dL e 20µg/dL eram usadas para descrever populações com deficiência, e baixo nível de vitamina A, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Entretanto, as observações das implicações da deficiência sub-clínica sobre as taxas de mortalidade infantil desencadearam interesse crescente pelo problema (RAMALHO; SAUNDERS, 2003) de forma que, novos pontos de corte foram propostos, baseados na curva de distribuição de níveis séricos ou plasmáticos de retinol para identificação de populações consideradas de risco para o desenvolvimento da deficiência de vitamina A (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995). O ponto de corte proposto, atualmente, para interpretar a concentração plasmática de retinol como deficiente é de 20µg/dL (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Baseado neste ponto de corte, a Organização Mundial da Saúde propõe a classificação da deficiência de vitamina A como problema de saúde pública nos níveis leve, moderado e grave, quando as prevalências em crianças maiores de um ano são entre 2 e 10%, 10 e 20% e maior que 20%, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Um ponto de corte ainda mais sensível da deficiência de vitamina A seria de 30µg/dL, entretanto este apresenta a limitação importante de diagnosticar, possivelmente, um grande número de falsos positivos (PEE; DARY, 2002).

O retinol sérico é o indicador mais utilizado para a avaliação do estado nutricional de vitamina A, entretanto para garantir sua fidedignidade seria importante utilizar algum marcador de infecção. Assim, como os demais indicadores bioquímicos têm a vantagem de diagnosticar, precocemente, os casos de deficiência. Entretanto, há de se destacar a viabilidade econômica visto que o exame de retinol sérico, apresenta um custo bastante elevado para se utilizar em nível de saúde pública, sendo mais comumente utilizado em pesquisas ou no atendimento clínico individual; e ainda apresenta menor aceitabilidade comparado a indicadores que a retirada de uma amostra de sangue não é necessária.

Concentração de vitamina A no leite materno

A avaliação dos níveis de vitamina A, no leite humano, tem sido empregada para avaliar o estado nutricional de vitamina A em nutrízes e lactentes amamentados ao seio (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

Para as mulheres, os níveis de retinol no leite materno são bons indicadores em virtude da sua relação com os estoques hepáticos e; assim como o retinol sérico a correlação entre a concentração de vitamina A no leite materno e os estoques corporais são mais evidentes quando estes estoques estão baixos. Assim, este indicador não é adequado para populações com estoques corporais adequados, entretanto são úteis para populações ou indivíduos com depleção dos estoques (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

Para os lactentes, os níveis de retinol no leite materno significam uma avaliação da ingestão de vitamina A. Considerando-se que o leite materno tem vitamina A de alta biodisponibilidade e, em geral, se constitui na principal fonte desta vitamina para os lactentes, explica-se a forte ligação entre a concentração de vitamina A no leite materno e o estado nutricional do lactente (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995). Sabe-se, ainda, que todas as crianças nascem com baixos estoques de vitamina A e, dependem da vitamina proveniente do leite materno para acumular e manter os estoques adequados até que a alimentação complementar seja suficiente para suprir as necessidades, portanto a concentração de vitamina A, no leite materno, serviria como indicador confiável do estado nutricional da criança (McLAREN; FRIGG, 2001; TANUMIHARDJO, 2004; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Entre as vantagens deste indicador está o fato de ser um método não invasivo, relativamente aceitável pela população e da facilidade para obtenção das amostras (McLAREN; FRIGG, 2001; TANUMIHARDJO, 2004; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Contudo, o propósito de utilizar a concentração de vitamina A, no leite materno, como indicador do estado nutricional da comunidade é relativamente novo e, precisa ser testado sob condições variáveis (McLAREN; FRIGG, 2001; STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

Na Indonésia, encontrou-se associação entre a concentração de vitamina A no leite materno menor que 30µg/dL e a prevalência do teste RDR positivo em crianças de seis meses de idade (STOLTZFUS et al., 1993). Estudo realizado em Bangladesh demonstrou que a concentração de vitamina A, no leite materno, por grama de gordura foi mais responsivo à suplementação com vitamina A, no período pós-parto, que o retinol sérico e o teste de resposta relativa à dose modificado (RICE et al., 2000). Roos e Harvey (2003) demonstraram que a suplementação materna com vitamina A e a promoção do aleitamento materno são estratégias efetivas para melhorar o estado nutricional dos lactentes.

Stoltzfus e Underwood (1995) sugerem o uso do indicador concentração de vitamina A, no leite materno, para a avaliação do impacto de intervenções

Valores inferiores a 30µg/dL de retinol ou 8µg/g de gordura, no leite materno, são utilizados como ponto de corte para identificar populações com deficiência de vitamina A e, as prevalências utilizadas na identificação do nível de importância da deficiência de vitamina A como problema de saúde pública são: menor que 10%, entre 10% e 25% e maior ou igual a 25% como problema de saúde pública de grau leve, moderado e grave, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A concentração de vitamina A, no leite materno, parece ser uma boa alternativa de avaliação do estado nutricional desta vitamina em lactentes, sobretudo naqueles que vivem em áreas de risco desta deficiência; seu uso é recomendado para a avaliação do impacto à intervenções, apresenta facilidades técnicas e tem boa aceitação pela comunidade. Entretanto, reforça-se a importância de mais estudos para confirmar sua viabilidade em condições variáveis.

Proteína ligadora de retinol

A proteína ligadora de retinol (RBP) é uma proteína específica de transporte de vitamina A, responsável pelo transporte desta vitamina do fígado para seus tecidos alvos. Quando os estoques de vitamina A do fígado estão depletados, a RBP fica retida no retículo endoplasmático do hepatócito e não é secretada (GAMBLE et al., 2001). Ou seja, na deficiência de vitamina A, assim como acontece com o retinol sérico, a RBP fica reduzida (PEE; DARY, 2002).

A concentração sérica de RBP ocorre na proporção de 1:1:1 com o complexo retinol e transtiretina. Devido à conhecida proporção deste complexo com a RBP, a concentração sérica de RBP reflete a concentração sérica de retinol (PEE; DARY, 2002). Assim, a RBP sérica tem sido proposta como uma medida substituta para o retinol sérico (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996), pois as técnicas para quantificar a RBP são mais fáceis e, menos caras que as usadas para o retinol, já que a RBP é uma proteína e, portanto pode ser detectada com ensaio imunológico, o qual é mais simples e barato que a análise pelo HPLC do retinol sérico (BAETEN et al., 2004; PEE; DARY, 2002). Além disso, a RBP é mais estável no que diz respeito à luz e a temperatura e, a análise desta requer uma pequena quantidade de sangue a qual pode ser obtida por punção digital diferente da análise de retinol que exige maior quantidade de sangue (PEE; DARY, 2002).

Entre as desvantagens da utilização da RBP, para avaliação do estado nutricional de vitamina A, está o fato de esta ser uma proteína de fase aguda e, portanto poder ser afetada por processos infecciosos (McLAREN; FRIGG, 2001; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Além disso, na presença de desnutrição, a RBP não pode ser utilizada como indicador do estado nutricional de vitamina A visto que a desnutrição *per si* leva a uma redução na concentração de proteínas plasmáticas (UNDERWOOD, 1990; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Ainda, as curvas de distribuição da RBP não se correlacionam fortemente com a prevalência de sinais

clínicos e de outros indicadores da deficiência de vitamina A como a impressão citológica anormal, medidas de dose-resposta e ingestão dietética atual (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996) não sugere ponto de corte para classificação de deficiência de vitamina A através da concentração sérica de RBP e, recomenda que mais estudos sejam realizados para confirmar a utilidade deste indicador. Entre os pesquisadores, não existe consenso sobre o ponto de corte adequado para classificar a deficiência de vitamina A (BAETEN et al., 2004; GAMBLE et al., 2001; SEMBA et al., 2002).

Vários estudos têm mostrado a correlação entre RBP e retinol. Gamble et al. (2001) encontraram correlação forte e significativa ($r = 0,94$; $p < 0,05$) na utilização destes indicadores em crianças da República Marshall. Neste mesmo estudo, observaram que na deficiência grave de vitamina A, a sensibilidade e especificidade foram de 96% e 91%, respectivamente com o ponto de corte para $RBP \leq 0,48 \mu\text{mol/L}$ e; na deficiência moderada, com ponto de corte para $RBP \leq 0,70 \mu\text{mol/L}$, encontrou-se 87% e 98% de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Estudo realizado com crianças da Indonésia demonstrou correlação de 0,55 ($p < 0,0001$) entre RBP e retinol sérico e sensibilidade e especificidade de 75% e 63,2% com o ponto de corte para $RBP < 0,69 \mu\text{mol/L}$ (SEMBA et al., 2002). A correlação obtida no estudo de Baeten et al. (2004), em mulheres do Kenia, foi de 0,88 ($p < 0,001$) e, os valores de sensibilidade e especificidade foram de 93% e 75% para predizer estado marginal de vitamina A ($RBP < 1,05 \mu\text{mol/L}$) e 91% e 94% para deficiência de vitamina A ($RBP < 0,70 \mu\text{mol/L}$), respectivamente.

Outra opção na análise da RBP é a razão molar RBP/TTR (transtiretina), que tem sido utilizado para avaliar o estado nutricional de vitamina A na presença de infecção ou inflamação, pois enquanto a RBP se encontra reduzida durante a deficiência de vitamina A e de processos agudos de inflamação, a TTR é afetada apenas por processos agudos de inflamação; assim pode-se distinguir a deficiência de vitamina A na presença de infecção (FILTEAU et al., 2000; ROSALES et al., 2002). Filteau et al. (2000) compararam esta técnica, usando 0,3 como ponto de corte, com MRDR e encontraram sensibilidade de 76% e 43% e especificidade de 22% e 81% na detecção da deficiência de vitamina A em crianças hospitalizadas e não hospitalizadas, respectivamente. Rosales et al. (2002) encontraram que o ponto de corte $\leq 0,36$ foi indicativo da deficiência marginal de vitamina A e, sugerem que este indicador possa ser utilizado como método indireto do estado nutricional de vitamina A.

O uso da RBP e a razão RBP/TTR tem sido sugerido como substitutos do retinol sérico para avaliação do estado nutricional de vitamina A. No entanto, necessita-se de mais estudos para comprovar sua viabilidade no diagnóstico, na avaliação do impacto a intervenções, bem como um ponto de corte adequado para a classificação da deficiência da vitamina A através deste indicador.

Teste de resposta relativa à dose (RDR)

A RDR representa uma das formas indiretas de avaliar a adequação da reserva hepática de vitamina A. O método baseia-se no fato de que nos estágios carenciais ocorre um acúmulo da proteína de ligação do retinol (RBP) e, que este excesso relativo vai para circulação na forma de *holo*-RBP pela administração de uma pequena dose de retinol (450-1000µg de palmitato de retinol); assim os valores antes e depois de 5 horas da administração da dose são diferentes quando existe a deficiência (RAMALHO; SAUNDERS, 2003; UNDERWOOD, 1990).

A RDR é calculada pela seguinte equação: $RDR = (\text{retinol após 5 horas da ingestão da dose maciça} - \text{retinol antes da administração}) \times 100 / \text{retinol após 5 horas da ingestão da dose maciça}$ (UNDERWOOD, 1990; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Se o valor encontrado for maior ou igual a 20% considera-se indicativo de reserva hepática de vitamina A inadequada, ou seja, menor que 0,07µmol/g de tecido hepático (UNDERWOOD, 1990; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A principal vantagem da utilização, deste teste, é que permite uma estimativa, mesmo que indireta, do *status* de vitamina A no fígado (DINIZ; SANTOS, 2000), portanto identifica a primeira etapa na história natural da deficiência de vitamina A. Flores et al. (1984), em estudo com crianças brasileiras menores de sete anos, concluíram que o teste de RDR apresenta boa aplicabilidade na avaliação individual, em pesquisas populacionais, bem como na avaliação da eficácia de programas de intervenção com vitamina A. Dentre as limitações do método encontram-se a dificuldade em realizá-lo em nível populacional devido à necessidade de duas amostras de sangue em um período de cinco horas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). E ainda, os resultados podem sofrer influência de infecções e, provavelmente, da adequação proteica e doenças hepáticas, onde a RBP pode estar reduzida e não produzir resposta ao teste. O mecanismo pelo qual o teste de RDR sofre influência dos processos infecciosos deve-se ao fato que, nesta condição, há uma redução da síntese de RBP no fígado e, conseqüentemente, redução do complexo retinol-RBP, fato que pode levar a resultados falsos negativos pelo teste de RDR (STEPHENSEN et al., 2002).

Stephensen et al. (2002) estudaram a validade da RDR na avaliação do estado nutricional de vitamina A em crianças peruanas com pneumonia através da comparação deste teste com os níveis séricos de retinol e, concluíram que a RDR foi eficaz somente quando as crianças avaliadas tinham a concentração da proteína C reativa menor que 10mg/L. Os resultados destes autores comprovam a baixa validade da RDR durante processos infecciosos.

O nível de importância, como problema de saúde pública, de acordo com a prevalência de deficiência de vitamina A pelo método da RDR, é classificado como leve, moderado ou grave quando as prevalências são: menor de 20%, entre 20 e 30% e maior do que 30%, respectivamente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Teste de resposta relativa à dose modificada (MRDR)

O MRDR é uma variação do teste RDR. Neste novo teste, o palmitato de retinol é substituído pelo 3,4-didehidroretinol (100µg/kg de peso ou 1,5mg como dose padrão), que se liga à RBP, sem alterar a concentração do retinol. Uma única amostra de sangue é retirada após 5 horas da ingestão do composto (TANUMIHARDJO et al., 1996). A principal desvantagem da MRDR é que o composto ainda não está disponível comercialmente, assim para a sua utilização é necessário sintetizá-lo em laboratório ou isolá-lo no óleo de fígado de peixe (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Assim como o RDR, o teste de MRDR apresenta como principal vantagem ser uma medida do *status* de vitamina A, no fígado, identificando a primeira etapa na história natural da deficiência de vitamina A. E ainda, apenas uma amostra de sangue é necessária para a utilização do mesmo; sendo, portanto minimamente invasivo (TANUMIHARDJO et al., 1994).

O cálculo do MRDR é feito dividindo-se a concentração sérica de 3,4-didehidroretinol pela concentração sérica de retinol e valores iguais ou superiores a 0,06 são considerados indicativos da deficiência de vitamina A. As prevalências da deficiência de vitamina A que caracterizam os níveis de importância como problemas de saúde pública são os mesmos utilizados pelo teste de RDR (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Tanumihardjo et al. (1994) compararam o RDR e MRDR e perceberam que as prevalências da deficiência, em crianças menores de 7 anos da Indonésia, foram semelhantes entre os dois métodos, entretanto não identificaram necessariamente os mesmos indivíduos.

A comparação do RDR e MRDR, na avaliação do estado nutricional de vitamina A de crianças desnutridas, mostrou que o MRDR teve significativamente menor sensibilidade detectando somente 71% das crianças com retinol sérico menor que 10µg/dL e 33% das crianças com retinol sérico entre 10 e 20µg/dL; comparado com 100 e 80% para o RDR (WAHED et al., 1995).

Em estudo de validação dos testes de RDR e MRDR como indicadores dos estoques de vitamina A no fígado, os autores concluíram que estes testes podem ser usados como indicadores dos estoques de vitamina A marginais ou depletados no fígado. Entretanto, estes resultados são semelhantes aos alcançados com a concentração de retinol sérico e, por isso ainda são necessárias novas pesquisas para encontrar melhores alternativas de avaliar os estoques hepáticos de vitamina A (VERHOEF; WEST, 2005). Já para Tanumihardjo (2004), os testes de RDR e MRDR são os mais sensíveis indicadores do estado nutricional de vitamina A. Estudo recente utilizou o teste MRDR para avaliar o impacto da intervenção de alimentos fonte de vitamina A no estado nutricional de crianças africanas de 5 a 10 anos de idade (JAARVELD et al., 2005).

Teste de resposta sérica de 30 dias (S30DR)

Este teste é similar ao já descrito teste RDR, entretanto a segunda amostra de sangue é coletada entre 30 a 45 dias depois da primeira (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Este método é mais aceito que o RDR, pois a retirada da segunda amostra de sangue ocorre apenas 30 a 45 dias após a primeira e, não depois de 5 horas como o teste de RDR. Entretanto, os testes de RDR e MRDR podem ser utilizados individualmente e o S30DR deve ser utilizado somente em nível populacional (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A utilização deste teste tenta diminuir os vieses de classificação da deficiência de vitamina A apenas com uma dosagem de retinol, a qual poderia ser alterada em situações de processos inflamatórios (FERRAZ et al., 2005).

Ferraz et al. (2001) estudaram crianças de 24 a 72 meses e, concluíram que o S30DR mostrou-se mais sensível para a detecção da deficiência de vitamina A do que os níveis séricos de retinol. O mesmo grupo de autores (FERRAZ et al., 2004) concluíram, portanto que o S30DR é um bom indicador da deficiência de vitamina A subclínica em crianças; além disso tem sido utilizado para monitorar a eficácia de programas de intervenção com vitamina A (FLORES et al., 1984).

A interpretação populacional deste teste é baseada no deslocamento da curva de distribuição do retinol. A interpretação individual é feita através da seguinte equação: $S30DR = (vitA_{30/45} - vitA_1) / vitA_{30/45} \times 100$; em que um valor maior ou igual a 20% é utilizado como ponto de corte para identificar a deficiência individual. As prevalências para identificar a deficiência de vitamina A, como um problema de saúde pública, são as mesmas utilizadas para RDR e MRDR. Entretanto, para S30DR consideram-se somente as prevalências de crianças menores de seis anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

A utilização dos testes RDR, MRDR e S30DR que são os testes que avaliam indiretamente os estoques hepáticos de vitamina A e, parecem ser boas medidas da deficiência sub-clínica da deficiência de vitamina A. Entretanto, como principal desvantagem apresenta-se a necessidade de amostras de sangue para a sua utilização, as quais muitas vezes podem não ser bem aceitas pela população.

Técnica de diluição isotópica com deutério (DRD)

A técnica de diluição isotópica com deutério é uma técnica indireta de avaliação quantitativa dos estoques corporais de vitamina A. A DRD consiste em administrar uma dose conhecida de vitamina A marcada com deutério e, após um período determinado (tempo necessário para o retinol marcado se misturar completamente com o endógeno) medir, no plasma, a razão isotópica de retinol [2H_4]/retinol (RIBAYAMERCADO et al., 2003). O estoque corporal total de vitamina A (em mmol de retinol)

é calculado como $= F \times \text{dose} \times \{S \times a \times [(1/D:H) - 1]\}$, onde “F” é o fator que expressa a eficiência de estocagem da dose administrada oralmente, a “dose” é a quantidade de vitamina A marcada administrada (em mmol), “S” é uma correção para as desigualdades na atividade específica entre soro e fígado e “a” é a fração de retinol marcado absorvido que permanece no corpo quando a amostra de sangue é retirada, corrigida pelas perdas irreversíveis de vitamina A e baseadas no “turnover” da vitamina no fígado. O fator “1” corrige a contribuição da dose administrada pelos estoques de vitamina A corporais. D:H é a razão de retinol marcado por não marcado (HASKELL et al., 1999; RIBAYA-MERCADO et al., 1999; RIBAYA-MERCADO et al., 2004; RIBAYA-MERCADO et al., 2003).

Estudo de Ribaya-Mercado et al. (2004) com pré-escolares da Nicarágua utilizou a DRD para avaliar o estado nutricional de vitamina A das crianças que receberam fortificação desta vitamina. Neste estudo, foi utilizado cápsulas contendo 5mg de acetato de retinol; o valor de “F” considerado foi de 0,5; “S” = 0,65; “a” foi estimado em 140 e o período do estudo foi de 21 dias.

Tang et al. (2004) utilizaram a técnica de diluição isotópica em “curto tempo” para avaliar o estado nutricional de vitamina A em crianças chinesas e, observaram que é possível utilizar esta técnica com 3 dias de enriquecimento, mas não com seis horas. Ribaya-Mercado et al. (2003) utilizaram a técnica com 3 dias de enriquecimento e, concluíram que a mesma pode ser utilizada como medida de avaliação quantitativa dos estoques corporais de vitamina A.

Retinol hepático

A concentração de vitamina A, no fígado, pode ser usada para estimar o estado nutricional de vitamina A, assumindo-se que a retenção no fígado acontece em um percentual constante (cerca de 90%) da reserva corporal total. Entretanto, para avaliar este indicador seria necessária utilização de uma biópsia, a qual deve ser usada, por razões éticas, apenas em estudos pós-morte ou quando há alguma patologia que justifique este procedimento (UNDERWOOD, 1990). Contudo, embora existam limitações éticas que inviabilizem a utilização deste método na avaliação do estado nutricional de vitamina A, há de se destacar que este é considerado o padrão ouro para a medida dos estoques corporais de vitamina A (FILTEAU et al., 1993) e, poderia ser utilizado no contexto das pesquisas que avaliem o estado nutricional desta vitamina (MAcLAREN; FRIGG, 2001).

HISTOLÓGICO

Citologia de impressão conjuntival

Os epitélios da córnea e conjuntiva sofrem queratinização pela deficiência de vitamina A; histologicamente podem-se observar anormalidades na conjuntiva bulbar

incluindo separação e distorção das células epiteliais e perdas na secreção de mucina pelas células caliciformes; estas alterações ocorrem já na deficiência moderada de vitamina A sendo, portanto, anteriores as manifestações clínicas desta deficiência. A citologia de impressão conjuntival (CIC) e a citologia de impressão com transferência (ICT) são baseadas nas mudanças histopatológicas que ocorrem na deficiência de vitamina A (CONGDON; WEST, 2002).

O método da CIC consiste em aplicar um papel filtro de acetato de celulose na conjuntiva bulbar por 2 a 3 segundos. O papel filtro remove amostras que contém de uma a três camadas de células epiteliais, e preserva principalmente as características morfológicas e as relações anatômicas das células obtidas. Depois da remoção do papel filtro, este é colocado em um material fixador, em seguida as amostras são coradas e examinadas no laboratório. As amostras são examinadas por microscopia para a presença e densidade de células caliciformes ou manchas de mucina e a densidade, tamanho, e forma das células epiteliais em relação à área ou número de campos microscópicos. As amostras anormais freqüentemente são isentas de células caliciformes e, são caracterizadas pelas células epiteliais queratinizadas. Entretanto, podem-se observar estágios intermediários e, portanto variações importantes dentro e entre campos microscópicos e olhos podem ocorrer, fato que pode levar a diferenças no diagnóstico e potencializar as diferenças inter-observadores (CONGDON; WEST, 2002). Além disso, a CIC não pode ser usada na presença de conjuntivite aguda ou crônica e outras inflamações oculares e, há dificuldade em realizar a técnica em crianças menores de três anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Pode haver interferência de fatores ambientais, tais como excessiva umidade e alta temperatura que podem afetar as propriedades do papel ou da técnica de transferência (DINIZ; SANTOS, 2000). Contudo, a principal vantagem da técnica é o baixo custo (TANUMIHARDJO, 2004).

A interpretação da CIC tem sido diferente de acordo com os autores. Tseng (1985) recomenda a utilização de seis estágios da CIC: estágio 0, com número abundante de células caliciformes e manchas de mucina e, células epiteliais pequenas; estágio 1, com poucas células caliciformes e manchas de mucina e, células epiteliais pequenas; estágio 2, perda de células caliciformes e mancha de mucina e, células epiteliais aumentadas; estágio 3, aumento e separação das células epiteliais; estágio 4, células epiteliais grandes e separadas com queratinização difundida e núcleos piquinóticos; estágio 5, células epiteliais grandes e queratinizadas com núcleos piquinóticos ou perda de núcleos; sendo que os estágios 0 e 1 representam impressão conjuntiva normal e os demais são considerados anormais. Wittpenn et al. (1988) sugerem a seguinte classificação: normal quando as células epiteliais são pequenas e estão justapostas com abundantes células caliciformes e manchas de mucina; *bordeline* quando existem poucas células caliciformes e manchas de mucina e, já se pode observar o início da separação nas células epiteliais; anormal quando as células caliciformes e as manchas de mucina estão ausentes e, observa-se marcada separação entre as células epiteliais. Kjolhede et al. (1989) utilizaram cinco estágios para interpretação da CIC: anormal quando as manchas de mucina cobrem

menos de 25% da amostra, as células calciformes são ausentes e as células epiteliais anormais; *bordeline* anormal quando as manchas de mucina cobrem menos de 25% da amostra, as células calciformes são raras (menor que 5) e existe células epiteliais anormais com pequenas ilhas de células normais; *bordeline* normal quando as manchas de mucina cobrem mais de 25% da amostra, as células calciformes são presentes, e contém mais células epiteliais anormais que normais; normal quando as manchas de mucina cobrem densamente mais de 25% da amostra, as células calciformes são presentes, e contém mais células epiteliais normais que anormais; ilegível quando existe poucas manchas de mucina ou células epiteliais para fazer a leitura com confiança. Reddy et al. (1989) utilizaram apenas dois estágios para classificação: impressão da conjuntiva mostrando células epiteliais pequenas com presença de células calciformes foram consideradas normais enquanto que células epiteliais aumentadas e ausência de células calciformes foram consideradas como anormais, quando se observou estágios intermediários como presença de pequenas e grandes células epiteliais, concomitantemente, mas na ausência de células calciformes também se considerou anormal.

A World Health Organization (1996) recomenda que a classificação de anormalidade, baseada na CIC, seja feita somente quando os dois olhos apresentam sinais de anormalidade. Se só se apresenta disponível informações de um olho se recomenda que: se é normal, então a criança é classificada como normal; se é anormal deve-se confirmar o diagnóstico com uma segunda impressão ou outro método de avaliação do estado nutricional de vitamina A.

Natadisastra et al. (1987) compararam a técnica de impressão conjuntival com a concentração de retinol sérico em pré-escolares da Indonésia. Para esta comparação utilizaram os cinco estágios sugeridos por Tseng (1985), no qual os dois primeiros estágios representavam critérios de normalidade e os demais de anormalidade. Observaram que a concentração de retinol reduziu, significativamente, com o aumento da gravidade pela impressão conjuntival; além disso, nos estágios que representavam a impressão conjuntival normal os níveis médios de retinol eram superiores a 20µd/dL e nos estágios de anormalidade da conjuntiva estes eram inferiores a 20µd/dL. Os autores concluíram que a CIC detecta a deficiência de vitamina A e, reforçam a importância da técnica em estudos populacionais devido à facilidade de obtenção da amostra e a necessidade de equipamentos simples na sua interpretação. Kjolhede et al. (1989) ressaltam outra vantagem da CIC como a alta estabilidade das amostras depois de fixada, podendo ser transportada e condicionada sem refrigeração.

Natadisastra et al. (1988) dividiram um grupo de 148 crianças pré-escolares da Indonésia em sete categorias de acordo com o estado nutricional de vitamina A, baseado no diagnóstico clínico e bioquímico e, compararam com os resultados de CIC. Foi observado que a proporção de crianças com CIC anormal era diretamente relacionada com a proporção de indivíduos deficientes e, comparando os grupos extremos observou-se 93% de sensibilidade e 94% de especificidade para detecção da deficiência de vitamina A.

A técnica da CIC foi comparada com a concentração sérica de retinol e a presença de sinais clínicos da deficiência de vitamina A em crianças indianas de 1 a 10 anos de idade; na primeira comparação observou-se que a concentração média de retinol foi, significativamente, menor em crianças com CIC anormal comparada com a CIC normal e, utilizando o ponto de corte de 20µg/dL, a sensibilidade foi 90% e a especificidade 35%. Na segunda comparação, com os sinais clínicos, cerca de 25% das crianças sem sinais clínicos apresentavam citologia anormal; fato que sugere que a CIC anormal reflete a deficiência subclínica (REDDY et al., 1989).

A CIC foi comparada com diferentes métodos de avaliação bioquímica em crianças da Guatemala e, observaram-se os seguintes valores de sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo: 26, 81 e 22%; 26, 80 e 14%; 23, 80 e 9%; 22, 80 e 40% quando comparados ao retinol sérico; RDR com ponto de corte de 14%; RDR com ponto de corte de 20%; RBP, respectivamente. Segundo os autores os baixos valores encontrados se devem à falta de padrão ouro para medir a deficiência marginal de vitamina A e, conseqüentemente as limitações dos métodos utilizados na comparação com a CIC; além disso, a baixa prevalência de deficiência grave na população em estudo poderia estar associada aos valores baixos de sensibilidade (GADOMSKI et al., 1989).

Polizzi et al. (1998) encontraram correlação positiva entre a CIC e a concentração sérica de retinol e, consideraram a CIC como um indicador específico da deficiência de vitamina A, pois este não foi influenciado por fatores como idade, estado nutricional e outros sintomas oculares.

Com relação à interpretação dos resultados de prevalência, sugere-se que uma prevalência menor que 20%, configure um problema de saúde pública leve, prevalência entre 20% e 40% caracterize um problema de saúde pública moderado e maior ou igual a 40%, um grave problema de saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996)

Citologia de impressão com transferência

A citologia de impressão conjuntival tem sido modificada e, então chamada de citologia de impressão com transferência (ICT); nesta técnica, as células coletadas através do papel filtro são imediatamente transferidas para uma lâmina de vidro e, então fixadas, coradas e analisadas (CONGDON; WEST, 2002). A análise e interpretação dos dados são iguais à realizada na técnica de citologia de impressão conjuntival.

Os indicadores funcionais, assim como os bioquímicos, apresentam como vantagem serem anteriores às manifestações clínicas da deficiência de vitamina A, contudo as interpretações não são simples constituindo-se na principal limitação do método; além disso, não tem sido utilizada como medida de avaliação do impacto das intervenções no combate desta deficiência.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Deve-se ressaltar que há facilidade de se utilizar os sinais clínicos para a avaliação do estado nutricional de vitamina A, já que muitos são específicos da deficiência e de fácil detecção. Entretanto, sabe-se que os sinais clínicos são inadequados para avaliar a prevalência de deficiência subclínica. O indicador funcional é interessante, pois, trata-se de um indicador subclínico e, portanto faz o diagnóstico anterior às manifestações clínicas aparecerem; todavia requer treinamento e habilidade para a sua utilização. Os indicadores bioquímicos permitem a detecção de casos precoces de carência, no entanto, muitas vezes são caros e invasivos. Os indicadores histológicos, apesar da facilidade técnica, são subjetivos e não têm padronização na interpretação.

Portanto, devido à falta de padrão-ouro para o diagnóstico do estado nutricional de vitamina A, deve-se considerar que todo método apresenta vantagens e desvantagens e, que a escolha depende do objetivo de seu uso (individual ou populacional); levando-se ainda em consideração o custo, o tempo, os equipamentos e o treinamento necessário para a sua realização.

REFERÊNCIAS/REFERENCES

- ADELEKAN, D. A.; NORTHROP-CLEWES, C. A.; OWA, J. A.; OYEDEJI, A. O.; OWOEYE, A. A.; THURNHAM, D. I. Use of biomarkers of sub-clinical infection, nutrition and neonatal maturity to interpret plasma retinol in Nigerian neonates. *Br. J. Nutr.*, n. 90, p. 353-361, 2003.
- BAETEN, J. M.; RICHARDSON, B. A.; BANKSON, D. D.; WENER, M. H.; KREISS, J. K.; LAVREYS, L.; MANDALIYA, K.; BWAYO, J. J.; MCCLELLAND, S. Use of serum retinol-binding protein for prediction of vitamin A deficiency: effects of HIV-1 infection, protein malnutrition, and the acute phase response. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 79, p. 218-225, 2004.
- BATES, C. J. Vitamin A. *Lancet*, n. 345, p. 31-35, 1995.
- CHRISTIAN, P. Recommendations for indicators: night blindness during pregnancy – a simple tool to assess vitamin A deficiency in a population. *J. Nutr.*, n. 132, p. 2884S-2888, 2002.
- CONGDON, N. G.; DREYFUSS, M. L.; CHRISTIAN, P.; NAVITSKY, R. C.; SANCHEZ, A. M.; WU, L. S. F.; KHATRY, S. K.; THAPA, M. D.; HUMPHERY, J.; HAZELWOOD, D.; WEST JR, K. P. Responsiveness of dark-adaptation threshold to vitamin A and β -carotene supplementation in pregnant and lactating women in Nepal. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 72, p. 1004-1009, 2000.
- CONGDON, N. G.; SOMMER, A.; SEVERNS, M.; HUMPHERY, J.; FRIEDMAN, D.; CLEMENT, L.; WU, L. S.; NATADISATRA, G. Pupillary and visual thresholds in young children as an index of population vitamin A status. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 61, p. 1076-1082, 1995.
- CONGDON, N. G.; WEST, K. P. Physiologic indicators of vitamin A status. *J. Nutr.*, n. 132, p. 2889S-2894S, 2002.
- DINIZ, A. S.; SANTOS, L. M. P. Hipovitaminose A e xerofalmia. *J. Pediatr.*, v. 3, n. 76, p. S311-S322, 2000.

FAO/WHO. Vitamin A. In: FAO/WHO. *Human vitamin and mineral requirements*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok: FAO/WHO, 2001.

FÁVARO, R. M. D.; SOUZA, N. V.; VANNUCCHI, H.; DESAI, I. D.; OLIVEIRA, J. E. D. Evaluation of rose bengal staining test and rapid dark-adaptation test for the field assessment of vitamin A status of preschool children in Southern Brazil *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 43, p. 940-945, 1986.

FERRAZ, I. S.; DANELUZZI, J. C.; VANNUCCHI, H.; JORDÃO, A. A.; RICCO, R. G.; CIAMPO, L. A.; MARTINELLI, C. E.; ENGELBERG, A. A.; BONILHA, L. R.; FLORES, H. Detection of vitamin A deficiency in Brazilian preschool children using the serum 30-day-dose-response test. *Eur. J. Clin. Nutr.*, n. 58, p. 1372-1377, 2004.

FERRAZ, I. S.; DANELUZZI, J. C.; VANNUCCHI, H.; JORDÃO, A. A.; RICCO, R. G.; CIAMPO, L. A. D.; MARTINELLI Jr, C. E.; ENGELBERG, A. A. D. A.; BONILHA, L. R. C. M.; CUSTÓDIO, V. I. C. Prevalência da carência de ferro e sua associação com a deficiência de vitamina A em pré-escolares. *J. Pediatr.*, n. 81, p. 169-174, 2005.

FERRAZ, I. S.; DANELUZZI, J. C.; VANNUCCHI, H.; JORDÃO, A. A.; RICCO, R. G.; CIAMPO, L. A. D.; DALBONI, V.; MARTINELLI Jr, C. E.; ENGELBERG, A. A. D. A.; BONILHA, L. R. C. M.; RICCO, R. G. Deficiência de vitamina A em crianças brasileiras de zona urbana detectadas através do +S30DR. In: REUNIÓN DE LA SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE INVESTIGACIÓN PEDIÁTRICA, 39, 2001, Colonia del Sacramento. *Anais...* v. 1. p. 3. Disponível em: <http://www.slaip.org.ar/portugues/abs_urug/ab_urug1p.htm>. Acesso em: 16 abr. 2005.

FILTEAU, S. M.; MORRIS, S. S.; ABBOTT, R. A.; TOMKINS, A. M.; KIRKWOOD, B. R.; ARTHUR, P.; ROSS, D. A.; GYAPONG, J. O.; RAYNES, J. G. Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 58, p. 192-197, 1993.

FILTEAU, S. M.; WILLUMSEN, J. F.; SULLIVAN, K.; SIMMANK, K.; GAMBLE, M. Use of the retinol-binding protein : transthyretin ratio for assessment of vitamin A status during the acute-phase response. *Br. J. Nutr.*, n. 83, p. 513-520, 2000.

FLORES, H.; CAMPOS, F.; ARAÚJO, C. R. C.; UNDERWOOD, B. A. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 40, p. 1281-1289, 1984.

GADOMSKI, A. M.; KJOLHEDE, C. L.; WITTPENN, J.; BULUX, J.; ROSAS, A. M.; FORMAN, M. R. Conjunctival impression cytology (CIC) to detect subclinical vitamin A deficiency: comparasion of CIC with biochemical assessments. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 49, p. 495-500, 1989.

GAMBLE, M. V.; RAMAKRISHNAN, R.; PALAFOX, N. A.; BRIAND, K.; BERGLUND, L.; BLANER, W. S. Retinol binding protein as a surrogate measure for serum retinol: studies in vitamin A-deficient children from the Republic of the Marshall Islands. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 73, p. 594-601, 2001.

HASKELL, M. J.; MAZUMDER, R. N.; PEERSON, J. M.; JONES, A. D.; WAHED, M. A.; MAHALAHABIS, D.; BROWN, K. H. Use of the deuterated-retinol-dilution technique to assess total-body vitamin A stores of adult volunteers consuming different amounts of vitamin A. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 70, p. 874-880, 1999.

JAARSVELD, P. J.; FABER, M.; TANUMIHARDJO, S. A.; NESTEL, P.; LOMBARD, C. J.; BENADÉ, A. J. S. β -carotene-rich orange-fleshed sweet potato improves the vitamin A status of primary school children assessed with the modified-relative-dose-response test. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 81, p. 1080-1087, 2005.

KJOLHEDE, C. L.; GADOMSKI, A. M.; WITTPENN, J.; BULUX, J.; ROSAS, A. M.; SOLOMONS, N. W.; BROWN, K. H.; FORMAN, M. R. Conjunctival impression cytology: feasibility of a field trial to detect subclinical vitamin A deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 49, p. 490-494, 1989.

MAQSOOD, M.; DANCHECK, B.; GAMBLE, M. V.; PALAFOX, N. A.; RICKS, M. O.; BRIAND, K.; SEMBA, R. D. Vitamin A deficiency and inflammatory markers among preschool children in the Republic of the Marshall Islands. *Nutr. J.*, n. 3, p. 1-6, 2004.

McLAREN, S. M.; FRIGG, M. *Sight and life manual on vitamin A deficiency disorders (VADD)*. 2. ed. London: Task force sight and life, 2001.

NATADISASTRA, G.; WITTPENN, J. R.; MUHILAL; WEST, K. P.; MELE, L.; SOMMER, A. Impression cytology: a practical index of vitamin A status. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 48, p. 695-701, 1988.

NATADISASTRA, G.; WITTPENN, J. R.; WEST, K. P.; MUHILAL; MELE, L.; SOMMER, A. Impression cytology for detection of vitamin A deficiency. *Arch. Ophthalmol.*, n. 105, p. 1224-1228, 1987.

PEE, S.; DARY, O. Biochemical indicators of vitamin A deficiency: serum retinol and serum retinol binding protein. *J. Nutr.*, n. 132, p. 2895S-2901S, 2002.

POLIZZI, A.; SCHENONE, M.; SACCA, S.C.; BURLANDO, S.; FREEDMAN, D.; MARINARI, G.; CUNEO, S.; ROVIDA, S.; FORMELLI, F.; CAMERINI, G. Role of impression cytology during hypovitaminosis A. *Br. J. Ophthalmol.*, n. 82, p. 303-305, 1998.

RAMALHO, A.; SAUNDERS, C. Vitamina A: aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e medidas de intervenção. *Rev. Metab. Nutr.*, v. 7, n. 1, p. 10-19, 2003.

REDDY, V.; RAO, V.; ARUNJYOTHI; REDDY, M. Conjunctival impression cytology for assessment of vitamin A status. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 50, p. 814-817, 1989.

RIBAYA-MERCADO, J. D.; MAZARIEGOS, M.; TANG, G.; ROMERO-ABAL, M. E.; MENA, I.; SOLOMONS, N. W.; RUSSELL, R. M. Assessment of total body stores of vitamin A in Guatemalan elderly by the deuterated-retinol-dilution method. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 69, p. 278-284, 1999.

RIBAYA-MERCADO, J. D.; SOLOMONS, N. W.; MEDRANO, Y.; BULUX, J.; DOLNIKOWSKI, G. G.; RUSSELL, R. M.; WALLACE, C. B. Use of the deuterated-retinol-dilution technique to monitor the vitamin A status of Nicaraguan national program of sugar fortification with vitamin A. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 80, p. 1291-1298, 2004.

RIBAYA-MERCADO, J. D.; SOLON, F. S.; DALLAL, G. E.; SOLOMONS, N. W.; FERMIN, L. S.; MAZARIEGOS, M.; DOLNIKOWSKI, G. G.; RUSSELL, R. M. Quantitative assessment of total body stores of vitamin A in adults with use of a 3-d deuterated-retinol-dilution procedure. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 77, p. 694-699, 2003.

RICE, A. L.; STOLTZFUS, R. J.; DE FRANCISCO, A.; KJOLHEDE, C. L. Evaluation of serum retinol, the modified relative-dose response ratio, and breast-milk vitamin A as indicators of response to postpartum maternal vitamin A supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 71, p. 799-806, 2000.

ROOS, J. S.; HARVEY, P. W. J. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull World Health Org.*, n. 81, p. 80-86, 2003.

ROSALES, F. J.; CHAU, K. K.; HASKELL, M. H.; SHANKAR, A. H. Determination of a cut-off for the molar ratio of retinol-binding protein to transthyretin (RBP:TTR) in Bangladeshi patients with low hepatic vitamin A stores. *J. Nutr.*, n. 132, p. 3687-3692, 2002.

SANCHEZ, A. M.; CONGDON, N. G.; SOMMER, A.; RAHMATHULLAH, L.; VENKATASWAMY, P. G.; CHANDRAVATHI, P. S.; CLEMENT, L. Pupillary threshold as an index of population vitamin A status among children in Indian. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 65, p. 61-66, 1997.

SEMBA, R. D.; YUNIAR, Y.; GAMBLE, M. V.; NATADISASTRA, G.; MUHILAL. Assessment of vitamin A status of preschool children in Indonesia using plasma retinol-binding protein. *J. Trop. Pediatr.*, n. 48, p. 84-87, 2002.

SOMMER, A. *La carencia de vitamina A y sus consecuencias: guía práctica para la detección y el tratamiento*. 3. ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1995.

STEPHENSEN, C. B.; FRANCHI, L. M.; HERNANDEZ, H.; CAMPOS, M.; COLAROSSO, A.; GILMAN, R. H.; ALVAREZ, J. O. Assessment of vitamin A status with the relative-dose-response test in Peruvian children recovering from pneumonia. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 76, p. 1351-1357, 2002.

STEPHENSEN, C. B.; GILDENGORIN, G. Serum retinol, the acute phase response, and the apparent misclassification of vitamin A status in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 72, p. 1170-1178, 2000.

STOLTZFUS, R. J.; HAKIMI, M.; MILLER, K. W.; RASMUSSEN, K. M.; DAWIESAH, S.; HABICHT, J. P.; DIBLEY, M. J. High-dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. *J. Nutr.*, n. 123, p. 666-675, 1993.

STOLTZFUS, R. J.; UNDERWOOD, B. A. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ.*, v. 73, n. 5, p. 703-711, 1995.

TANG, G.; QIN, J.; HAO, L.; YIN, S.; RUSSELL, R. M. Use of a short-term isotope-dilution method for determining the vitamin A status of children. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 76, p. 413-418, 2002.

TANUMIHARDJO, S. A. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J. Nutr.*, n. 134, p. 290S-293S, 2004.

TANUMIHARDJO, S. A.; CHENG, J. C.; PERMAESIH, D.; MUHERDIYANTININGSIH; RUSTAN, E.; MUHILAL; KARYADI, D.; OLSON, J. A. Refinement of the modified-relative-dose-response test as a method for assessing vitamin A status in a field setting: experience with Indonesian children. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 64, p. 966-971, 1996.

TANUMIHARDJO, S. A.; PERMAESIH, D.; DAHRO, A. M.; RUSTAN, E.; MUHILAL; KARYADI, D.; OLSON, J. A. Comparison of vitamin A status assessment techniques in children from two Indonesian villages. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 60, p. 136-141, 1994.

TSENG, S. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*, n. 92, p. 728-733, 1985.

UNDERWOOD, B. A. Methods for assessment of vitamin A status. *J. Nutr.*, n. 120, p. 1459-1463, 1990.

VERHOEF, H.; WEST, C. E. Validity of the relative-dose-response test and the modified-relative dose-response test as indicators of vitamin A stores in liver. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 81, p. 835-839, 2005.

WAHED, M. A.; ALVAREZ, J. O.; KHALED, M. A.; MAHALANABIS, D.; RAHMAN, M. M. Comparison of the modified relative dose response (MRDR) and the relative dose response (RDR) in the assessment of vitamin A status in malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.*, n. 61, p. 1253-1256, 1995.

WASANTWISUT, E. Recommendations for monitoring and evaluating vitamin A programs: outcome indicators. *J. Nutr.*, n. 132, p. 2940S-2942, 2002.

WEDNER, S. H.; ROSS, D. A.; CONGDON, N.; BALIRA, R.; SPITZER, V.; FOSTER, A. Validation of night blindness reports among children and women in a vitamin A deficient population in rural Tanzania. *Eur. J. Clin. Nutr.*, n. 58, p. 409-419, 2004.

WITTPENN, J. R.; WEST, K. P.; KEENUM, D.; FARAZDAGHI, M.; HUMPHREY, J.; HOWARD, G. R.; SOMMER, A. *ICEPO training manual: assessment of vitamin A status by impression cytology*. Baltimore, MD: Dana Center, Johns Hopkins University, 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global prevalence of vitamin A deficiency*. Micronutrient Deficiencies Information System. Geneva: WHO, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes*. Geneva: WHO, 1996.

Recebido para publicação em 16/06/05.

Aprovado em 01/02/06.