



Original / *Pediatría*

Efecto de la leche fortificada Liconsa en el estado de hierro y zinc en preescolares Mexicanos

María Isabel Grijalva-Haro, Elsa Yolanda Chavarria, Elizabeth Artalejo, Amparo Nieblas, José Antonio Ponce¹ y Alma E. Robles-Sardin

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Departamento de Nutrición Pública y Salud. México.

Resumen

Introducción: Existen programas que buscan mejorar el estado nutricional de la población vulnerable mediante la fortificación de alimentos. En México, el programa de leche fortificada Liconsa está dirigido a familias de bajo nivel socioeconómico.

Objetivo: Evaluar el efecto del consumo de leche fortificada Liconsa en el estado de nutrición de hierro y zinc, en preescolares.

Sujetos y métodos: Estudio cuasiexperimental, conducido en colonias marginadas de Hermosillo, México. Participaron 77 niños sanos, de los cuales 54 consumieron leche fortificada Liconsa (GCLFL) y 23 conformaron el grupo de referencia (GR, consumo de leche fluida de vaca, no fortificada). El estado de hierro se midió a través de hemoglobina, ferritina, hierro sérico, capacidad total de fijación de hierro, saturación de transferrina; y zinc sérico. También se estimó el consumo de leche fortificada a libre demanda, en la etapa basal y después de 6 meses. Mediante dos recordatorios de 24 horas, no consecutivos, se midió el consumo de hierro y zinc en la dieta total. Se realizó estadística descriptiva, prueba *t-student* para muestras independientes y prueba de ji cuadrada para diferencias de proporciones.

Resultados: Los niños que consumieron leche fortificada incrementaron sus niveles de hemoglobina (1,13 g/dL, $p < 0,05$) y ferritina (5,83 µg/L, $p < 0,05$). La prevalencia de bajas reservas de hierro disminuyó de 20,4% a 4,1% ($p < 0,05$) y el zinc sérico aumentó en 45,2 µg/dL ($p < 0,05$). En el grupo de referencia, no hubo cambios significativos. El promedio diario del consumo de leche fortificada Liconsa fue de $22,7 \pm 14,5$ g, que suministró 2,5 mg/d de hierro y zinc. La dieta aportó $9,2 \pm 3,4$ mg/d de hierro y $6,9 \pm 3$ mg/d de zinc.

Conclusiones: El consumo de leche fortificada beneficia el estado bioquímico de hierro y zinc en los niños del programa de abasto social de Liconsa.

(*Nutr Hosp.* 2014;29:331-336)

DOI:10.3305/nh.2014.29.2.7029

Palabras clave: Hierro. Zinc. Leche fortificada Liconsa. México.

IMPACT OF FORTIFIED MILK ON THE IRON AND ZINC LEVELS IN MEXICAN PRESCHOOL CHILDREN

Abstract

The aim of this study was to assess the efficacy of a national program of consumption of fortified milk "Liconsa" on the nutritional status of iron and zinc in pre-school children (3-5 y). The study was conducted in 77 healthy children of both genders. 54 of them consumed Liconsa fortified milk (GCLFL) and 23 consumed no fortified milk (GR). Iron status was determined by measuring hemoglobin and ferritin and zinc status by serum zinc. The consumption of milk was on free demand and it was estimated at baseline and 6 mo after. Through 24-h recall of measured consumption of iron and zinc in the total diet. Descriptive statistics, Student's *t* test for independent samples and chi-square test for differences in proportions. Children who consumed fortified milk showed an increase of hemoglobin and ferritin levels [1.13 g/dL ($p < 0.05$) and 5.83 µg/L ($p < 0.05$) respectively]. Additionally, a decrease was found of the prevalence of low iron stores from 20.4 to 4.1% ($p < 0.05$). The serum zinc level showed an increase of 45.2 µg/dL ($p < 0.05$). At the end of the study no child showed a micronutrient deficiency. Children who did not consume fortified milk Liconsa showed no significant change in their serum iron and zinc values. The average consumption of milk powder Liconsa was 22.7 ± 14.5 g, providing 2.5 mg of daily iron and zinc. Supplied diet 9.2 ± 3.4 mg of iron and 6.9 ± 3 mg of zinc. The consumption of fortified milk had a beneficial effect on the serum levels of iron and zinc in children's social welfare program Liconsa.

(*Nutr Hosp.* 2014;29:331-336)

DOI:10.3305/nh.2014.29.2.7029

Key words: Iron. Zinc. Fortified milk. Liconsa. Mexico.

Correspondencia: María Isabel Grijalva Haro.
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.
Carretera de la Victoria, km. 0,6.
83304 Hermosillo, Sonora, México.
E-mail: grijalva@ciad.mx

Recibido: 23-VII-2013.
1.ª Revisión: 10-X-2013.
Aceptado: 18-X-2013.

Abreviaturas

GCLFL: Grupo consumidor de leche fortificada Liconsa.

GR: Grupo de referencia.

P/E: Peso para la edad.

T/E: Talla para la edad.

IMC/E: Índice de masa corporal para la edad.

MCLG: Masa corporal libre de grasa.

R: Resistencia.

Xc: Reactancia.

TIBC: Capacidad total de fijación de hierro (por sus siglas en inglés).

%ST: Porcentaje de saturación de transferrina.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Nutrición y Salud.

ENN: Encuesta Nacional de Nutrición.

Introducción

Las carencias de micronutrientos están ampliamente distribuidas a nivel mundial. El hierro y zinc son indispensables para la vida y aunque se requieren en pequeñas cantidades, participan formando parte de enzimas que actúan en diversos procesos biológicos esenciales para el buen funcionamiento del organismo. Sus deficiencias se asocian con la presencia de anemia, incremento de la morbilidad en enfermedades infecciosas especialmente de diarreas, problemas en el desarrollo cognoscitivo y reducción en la velocidad de crecimiento, entre otras; afectando principalmente a niños y mujeres embarazadas^{1,2}. Estos elementos están involucrados en procesos fisiológicos importantes y su deficiencia puede comprometer el estado de salud principalmente de población vulnerable.

Tanto la deficiencia de hierro, como la de zinc tienen un papel preponderante como problemas de salud pública, además, dichas deficiencias no sólo pueden ser el resultado de vivir en un medio ambiente propicio para el desarrollo de infecciones, sino por la ingesta inadecuada de alimentos y baja biodisponibilidad.

La fortificación de alimentos es un proceso efectivo para aumentar la ingestión de micronutrientos a nivel poblacional^{3,4}. En la actualidad los programas de fortificación se utilizan para combatir la deficiencia de hierro y zinc, entre otras.

En México, se han creado programas gubernamentales con el fin de disminuir problemas de salud y nutrición asociados con deficiencias. Desde 1944, se desarrolla un programa de asistencia alimentaria (actualmente llamado Programa de Abasto Social de Leche Liconsa) que vende leche fortificada a precio accesible a familias de nivel socioeconómico bajo (con niños menores de 12 años y/o niñas de hasta 15 años de edad, entre otros requisitos). A partir del año 2000, la leche empezó a ser fortificada con micronutrientos, entre ellos hierro y zinc con el fin de contrarrestar a nivel masivo estas deficiencias⁵. La cobertura de Liconsa es nacional, actualmente se beneficia

el 9.7% de los hogares que corresponden a casi 6 millones de habitantes, en su mayoría menores de 12 años (<http://www.liconsa.gob.mx/programa-de-abasto-social/abasto-social-de-leche-en-mexico/>)^{6,7}.

Este estudio tiene como propósito evaluar el impacto del programa de abasto social de leche fortificada Liconsa en el estado de hierro y zinc en niños prescolares.

Materiales y Métodos

Población de estudio y diseño

Se realizó un estudio cuasiexperimental, conducido en colonias marginadas de Hermosillo, Sonora, en el Noroeste de México. Participaron 77 niños aparentemente sanos en dos grupos, uno de ellos fue el Grupo Consumidor de Leche Fortificada Liconsa (GCLFL) que estuvo conformado por 54 niños de ambos sexos de 3 a 5 años de edad de recién ingreso al programa de leche de Liconsa. El segundo grupo (23 niños) de características similares fue considerado Grupo de Referencia (GR) en el cual los niños sólo consumieron leche entera de vaca no fortificada. El estudio se realizó durante un período de 6 meses.

Con la ayuda de las promotoras de trabajo social del programa de leche Liconsa se contactó a padres o tutores de niños de nuevo ingreso al programa. A ellos se les invitó, explicó e informó de los objetivos y el desarrollo del estudio y posteriormente se les solicitó firmar el consentimiento informado. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Las mediciones así como la toma de muestras fueron realizadas por personal especializado en el área.

Mediciones antropométricas y de composición corporal

Se llevaron a cabo mediciones de peso y talla según la técnica de Jelliffe & Jelliffe (1989)⁸, utilizando una balanza electrónica digital, con capacidad de 0 a 150 ± 0.05 kg (AND FV-150 KA1, A & D Co., LTD. Japón) y un estadiómetro Holtain, con capacidad de medición de 0 a 210 ± 0.1 cm.

Se calcularon los indicadores Z de peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E) e índice de masa corporal para la edad (IMC/E) al inicio y al final de estudio, considerando los valores de referencia⁹. Para el cálculo de estos indicadores se utilizó el programa WHO *Anthro plus* (ver.3.2.2, 2011)¹⁰.

La evaluación de la composición corporal se hizo mediante la medición de la resistencia y reactancia con un análisis de bioimpedancia eléctrica (Impedimed IMP5TM, Impedimed Pty. Ltd.), con una frecuencia simple de 50Hz y una exactitud electrónica de ± 0.5%. Para estimar el porcentaje de grasa corporal se utilizó la ecuación desarrollada por Schaeffer y col. (1994)¹¹: $MCLG = 0,15 + (0,65) Talla^2(cm) / R + (0,68) Edad$

(años), $R^2 = 0,975$, $EES = 1.98$ kg; donde MCLG = masa libre de grasa y R = resistencia.

Evaluación bioquímica

A los niños y sus padres o tutores se les citó en la mañana y después de un ayuno de 8 horas, a cada niño se le extrajeron 10 mL de sangre mediante punción venosa utilizando agujas tipo mariposa y tubos BD vacutainer™. Las muestras se transportaron bajo condiciones de refrigeración al laboratorio y se obtuvo el suero centrifugando la muestra a 2700 rpm/30 min a 4 °C (CS-6R centrifuge Beckman, Palo Alto, CA). El suero se almacenó en crioviales (tratados especialmente para análisis de elementos traza), a -70 °C hasta su análisis.

Estado de Hierro

Se midió hemoglobina en sangre total *in situ* utilizando un hemoglobímetro portátil (HemoCue, Angelholm, Sweden)¹². La ferritina sérica se determinó por un método inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida, (Coat-A-Count Ferritin IRMA). El hierro sérico y la capacidad de fijación de hierro (TIBC) se determinaron por la técnica de Fisher y Price (1964) en donde el hierro se desprende de la transferrina por acción del ácido clorhídrico, luego la proteína se precipitó con ácido tricloroacético, se centrifugó y el sobrenadante se llevó a un pH de 4.5 utilizando acetato de amonio, el donde el ion férrico fue reducido a ion ferroso con cloruro de hidroxilamonio, y la adición de cromógeno de hierro (tripiridyl-s-triazine, TPTZ) para el desarrollo de color, el cual se midió en un espectrofotómetro (GENESIS 10UV, Termo Spectronic, USA). El TIBC se determinó por la adición en exceso de cloruro férrico al suero, el exceso de iones que no se absorbieron se removieron adicionando carbonato de magnesio en exceso. La determinación de hierro en suero en este material saturado representa el TIBC total, y finalmente, el porcentaje de saturación de transferrina (%ST) se calculó utilizando los valores de hierro sérico y TIBC¹³.

Los puntos de corte para anemia fueron los siguientes: hemoglobina < 11,1 g/dL para niños menores de 5 años y < 11,5 g/dL para mayores de 5 años; ferritina < 12 µg/L, hierro sérico < 40 µg/dL, TIBC > 400 µg/dL y %ST < 16%¹⁴.

Estado de Zinc

Se determinó zinc sérico mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica (Spectr AA20, Victoria, Australia), con atomizador en flama aire-acetileno (técnica 999.11, AOAC, 2000), con registros de lectura a una longitud de onda de 214 nm y con lámpara de zinc de cátodo hueco. El suero se diluyó (1:5) con un detergente tensoactivo no iónico [$C_{12}H_{26}O(OCH_2CH_2)_n$, Brij® 35 al 0.03%], así mismo los estándares utilizados para la cur-

va de calibración fueron preparados con la misma matriz. Se usó como control una muestra certificada de leche NIST SRM Nonfat Milk 1549 con un intervalo de confianza del 95% y una concentración de $46,1 \pm 2,2$ µg Zn/mL. Se tomó como referencia el punto de corte para considerar deficiencia de 65 µg/dL, de acuerdo al International Zinc Nutrition Consultative Group¹⁵.

Estimación del consumo de leche fortificada Liconsa

Se registró diariamente el consumo de leche en un formato con la colaboración de la madre. Éste se verificó mediante una visita semanal a cada madre realizando una entrevista acerca de la preparación de la leche. También se registró el peso de la cantidad de leche que cada madre utilizaba para la preparación y se calculó el consumo de la leche en peso (g). En la leche Liconsa¹⁶, se llevó a cabo un análisis de la composición proximal y medición de hierro y zinc, la cual está fortificada con 11,2 mg/100 g de hierro y 11,5 mg/100 g de zinc.

Recordatorio de 24 horas

En el grupo GCLFL, se realizaron 2 entrevistas de recordatorios de 24 horas no consecutivos, al inicio y final del estudio con un intervalo mínimo de tres semanas¹⁷. La entrevista se llevó a cabo con la madre o encargada de la alimentación del niño y quien describió los alimentos consumidos por él y la forma de preparación de los mismos. Los datos obtenidos se codificaron y analizaron individualmente en un programa de computadora: ESHA Food Processor II, versión 2007, el cual contiene las tablas de composición de alimentos de la población norteamericana y además alimentos regionales analizados en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) para tablas de composición de alimentos de la población Sonorense^{18,19}.

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva de los datos, así como prueba de *t-student* pareada o en su caso un ANCOVA para evaluar la variación entre los dos períodos de las variables continuas y pruebas de χ^2 para probar la diferencia entre las proporciones de niños por abajo o arriba de los puntos de corte de riesgo antropométrico y bioquímico. Todos los análisis se realizaron con el programa NCSS (ver. 2002).

Resultados

Evaluación antropométrica y de composición corporal

Las características físicas de los niños del estudio se muestran en el Cuadro 1. No se encontró ninguna dife-

rencia entre los grupos al iniciar el estudio. En el Cuadro 2 se muestran los indicadores antropométricos de los grupos, al inicio y al final del estudio. Se observó un cambio significativo para el indicador Z P/E en ambos grupos de estudio entre las fases inicial y final. Al iniciar el estudio, uno de los niños del GCLFL presentó desnutrición crónica (T/E= -3.24) y 9 desnutrición leve a moderada (Z de -1 a -2.99).

No se encontró diferencia ($p > 0,05$) entre las fases inicial y final en el GR con respecto a los indicadores antropométricos y los valores de composición corporal. Por el contrario, en el grupo GCLFL se observó diferencia en la composición corporal (masa grasa) entre las fases ($p = 0,0002$).

Evaluación del estado bioquímico de hierro y zinc

En el Cuadro 3 se muestran los valores promedio de los indicadores del estado de hierro y zinc. Todos se encontraron dentro de los rangos normales durante el estudio.

En el grupo GCLFL el valor de hemoglobina se incrementó significativamente en 1.13 g/dL ($p < 0.01$). La prevalencia de anemia disminuyó en el período del estudio de 5,5% a 1,8% aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Los niveles de ferritina presentaron una mejoría y se detectó un incremento de 5,8 µg/L ($p < 0.05$). Al iniciar el estudio 27,7% de los participantes presentó deficiencia en la reserva de hierro (ferritina < 12 µg/L) disminuyendo a 5,5% al finalizar ($p < 0,05$); solo un niño (2%) presentó además eritropoyesis deficiente²⁰ (deficiencia de hierro sin anemia con valores de ferritina < 12 µg/L y % ST < 16 %) y al final del período de estudio se normalizó. Con respecto al GR, se encontró que el 17,4% de los niños presentaron deficiencia de hierro y al finalizar este se redujo a 13% ($p > 0,05$) aunque no fue significativo.

Por otro lado en el GCLFL, el zinc sérico aumentó en 45,2 µg/dL ($p < 0,001$). Al inicio la prevalencia de deficiencia de zinc sérico se presentó en el 10,4% de la muestra; al finalizar el estudio ningún niño presentó deficiencia de este micronutriente. En el grupo GR no se observó deficiencia de zinc sérico ($p > 0.05$).

Consumo de hierro y zinc y composición proximal de leche Liconsa

El consumo promedio de leche Liconsa en los niños del estudio fue de $22,7 \pm 14,5$ g/día (190 mL/d), mientras que en el grupo de referencia el consumo de leche entera de vaca fue de 232 mL/d. Considerando los valores de composición e ingestión promedio de leche, se estimó el aporte de macronutrientes, hierro y zinc tanto de la leche fortificada Liconsa como de leche entera fluida comercial (Cuadro 4). El aporte de hierro y zinc proveniente de la leche Liconsa fue de 2,54 y 2,61 mg/d, respectivamente. El análisis de la composición

proximal (base húmeda, g/100 g) de la leche fortificada Liconsa mostró un contenido de 25,3% de proteína, 24,7% de grasa, 42,7% de carbohidratos; así mismo un aporte de hierro de 11,2 mg/100g y de zinc 11,5 mg/100 g. La ingestión promedio de hierro proveniente de la dieta fue de $9,2 \pm 3,4$ mg/d de hierro y $6,9 \pm 3$ mg/d de zinc.

Al inicio del estudio la leche fluida comercial ocupaba el lugar número 20 entre los alimentos aportadores de hierro y el cuarto entre los aportadores de zinc. Al finalizar el estudio la leche fortificada Liconsa representó la segunda fuente de hierro y la primera de zinc en la dieta del GCLFL (que aportó 2.5 mg tanto de hierro como de zinc).

Discusión

La OMS define como aceptable el estado nutricional de una población cuando la prevalencia de desnutrición moderada a severa es $< 5\%$ y la media de puntaje Z T/E $> -0,23$. En base a esta definición nuestros resultados mostraron que al inicio del estudio los niños presentaron un estado nutricional aceptable ya que la prevalencia de desnutrición moderada a severa (< -2 T/E) fue de 2,6% (rango: -0,13-0,53). Esta prevalencia está por debajo de la reportada en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012⁶ que es del 13,6% a nivel nacional. En relación a los criterios de clasificación de desnutrición (Z < -1) según la NOM-008-SSA2-1993²¹, al finalizar el período del estudio, el estado nutricional de la población mejoró ya que el indicador de crecimiento Z peso/edad mostró un incremento significativo, disminuyendo el porcentaje de niños con Z < -1 para peso/edad de 16,6 a 11,1%; en el caso de Z talla/edad se observó una tendencia a disminuir ($p > 0,05$). Esto puede ser debido a que el período del estudio fue corto para observar cambios en este indicador.

No se encontró diferencia significativa en los indicadores de crecimiento entre los grupos al inicio y final del período de estudio ($p > 0,05$). Con respecto a la composición corporal, el GCLFL presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) en este período; sin embargo, no se puede afirmar que dicho cambio se debió al consumo de la leche Liconsa ya que los niños tuvieron vida libre durante el estudio y no se controló la dieta.

Con respecto a la prevalencia de anemia (5,5%) encontrada, ésta fue baja comparándola con los resultados de la ENSANUT 2006 en donde los resultados mostraron una prevalencia para Sonora de 30,9% para niños menores de 5 años. Por otro lado, la reciente ENSANUT 2012 reporta a nivel nacional una prevalencia de 23,3% de anemia en prescolares y para la región norte 11,6% en edades de 48 a 59 meses²². Los resultados encontrados en este estudio son similares a los reportados en estudios previos realizados en Sonora por Grijalva y cols. (1997)²³ donde la prevalencia de anemia fue de 8% en niños prescolares de zonas rurales y en el estudio realizado por Valencia y cols., (1995 y

1999)^{24,25} la prevalencia de anemia fue de 12,8% en niños escolares y 6,7% en preescolares. Cabe mencionar que el porcentaje de anemia hacia el final del este estudio fue de 1,8% ($p > 0.05$).

Además de la disminución de la prevalencia de anemia hubo un aumento significativo en los niveles de hemoglobina (1,13 g/dL), ferritina (5,83 µg/dL) y zinc sérico (45,2 µg/dL), a diferencia de estudios previos en donde solo se ha evaluado hemoglobina como es el caso de la evaluación realizada al consumo de la papilla distribuida en Perú por el Fondo Nacional de Desarrollo y Compensación Social²⁶.

El estudio realizado por Maulen y col.²⁷ en México, mostró el impacto del consumo de una leche entera adicionada con vitaminas y minerales, en donde los resultados reflejaron cambios significativos en los niveles de hemoglobina (0,64 g/dL) y disminución en la prevalencia de anemia (18%). Aunque son resultados interesantes, no se evaluó el impacto en los indicadores de ferritina ni de zinc. En nuestro estudio casi se duplica dicho incremento en los niveles de hemoglobina.

Por otro lado, en México se han realizado evaluaciones a diferentes programas sociales a través del tiempo. Uno de ellos es el Programa de Educación, Salud y Alimentación, (posteriormente denominado "Oportunidades"), donde los resultados de dichas evaluaciones han mostrado una disminución en la prevalencia de anemia, aunque no se presentó ningún cambio significativo en el estado nutricional de hierro, y no se presentaron datos de zinc^{28,29}. Cabe mencionar aquí que según datos de la ENSANUT 2006, la prevalencia de deficiencia de zinc en niños de 3-4 años fue de 27,5%³⁰.

El Instituto Nacional de Salud Pública, realizó una evaluación del consumo de la leche fortificada Liconsa en donde los resultados mostraron que disminuyó la prevalencia de anemia y aumentaron los niveles de ferritina sérica, sin embargo, no muestran cuál fue el impacto en el estado nutricional de zinc³¹. Villalpando y cols. (2006), reportaron un estudio en infantes que consumieron una leche fortificada con gluconato ferroso y óxido de zinc y observaron una mejoría en el estado de hierro³².

En este estudio se encontró una prevalencia deficiente de zinc del 6% y al igual que la de anemia es muy baja en comparación con la reportada a nivel nacional según resultados de la ENN de 1999³³ (deficiencia de zinc de 32,9% para niños de 3 a 4 años y 21,4% para niños de 5 a 6 años). En los datos reportados por la ENSANUT, 2006³⁰, por otro lado, no se cuenta con referencia sobre la deficiencia de este elemento a nivel regional. Asimismo, se tiene poca información a nivel mundial sobre estudios en los que se ha evaluado el impacto en el estado nutricional de zinc en programas de fortificación.

Al comparar los resultados de los indicadores bioquímicos de los niños que no consumieron la leche Liconsa y los que si la consumieron, se encontró diferencia significativa en los niveles de hemoglobina, ferritina y zinc en suero. Por ello, se puede inferir que el

consumo de la leche fortificada Liconsa influyó en los niveles de hemoglobina, ferritina y zinc sérico, aun cuando no se consumió en las cantidades sugeridas por el proveedor, el cual recomienda la ingestión de 60 g/d de leche en polvo (2 vasos de leche) y que aportarían la cantidad de 6,6 mg/d de hierro y zinc. Es recomendable que las promotoras del programa de leche Liconsa enfatizaran el beneficio de este producto para los consumidores.

Al comparar el consumo de la leche comercial con la leche Liconsa se observó que la leche Liconsa es una mejor fuente de hierro y zinc, y con ello se aumenta la ingestión de estos dos elementos.

Agradecimientos

A Liconsa S.A. de C.V. por el apoyo para la realización de este estudio, así como a su personal y promotoras que colaboraron durante el trabajo de campo.

Referencias

1. Black RE. Zinc Deficiency, Infectious Disease and Mortality in the Developing World. *The Journal of Nutrition* 2003; 133: 1485S-1489S.
2. Bryan J, Osendarp S, Hughes D, Calvaresi E, Baghurst K, van Klinken J-W. Nutrients for Cognitive Development in School-aged Children. *Nutrition Reviews* 2004; 62: 295-306.
3. Darnton-Hill I, Nalubola R. Fortification strategies to meet micronutrient needs: successes and failures. *Proceedings of the Nutrition Society* 2002; 61: 231-41.
4. WHO. Estimating appropriate levels of vitamins and minerals for food fortification programmes: The WHO Intake Monitoring, Assessment and Planning Program (IMAPP): meeting report Geneva: World Health Organization, (<http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9789241599603.pdf>, accesado el 22 de abril del 2013); 2010.
5. Rivera JA, Sotres-Alvarez D, Habicht J, Shamah T, Villalpando S. Improving nutrition in Mexico: the use of research for decision-making in nutrition policies and programs. In: Freire WB, ed. *Nutrition and an active life from knowledge to action*. Washington, DC: Pan American Health Organization; 2005.
6. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A C-NL, Romero-Martínez M, M. H-Á. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública 2012.
7. Liconsa SA. Abasto Social de Leche en México (<http://www.liconsa.gob.mx/programa-de-abasto-social/abasto-social-de-leche-en-mexico/>). México: Secretaría de Desarrollo Social; 2012.
8. Jelliffe TDB, Jelliffe EFP. *Community Nutritional Assessment: With Special Reference to Less Technically Developed Countries*. Oxford University Press; 1989.
9. WHO. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Growth velocity based on weight, length and head circumference: Methods and development. Geneva: World Health Organization; 2009.
10. WHO. AnthroPlus for personal computers Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva: World Health Organization. <http://www.who.int/growthref/tools/en/>; 2009.
11. Schaeffer F, Georgi M, Zieger A, Schaerer K. Usefulness of bioelectric impedance and skinfold measurements in predicting fat-free mass derived from total body potassium in children *Pediatric Research* 1994; 35: 617-24.

12. von Schenck H, Falkensson M, Lundberg B. Evaluation of "HemoCue," a new device for determining hemoglobin. *Clinical Chemistry* 1986; 32: 526-9.
13. Henry JB. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Saunders Co.; 2001.
14. WHO. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2001.
15. de Benoist B, Darnton HI, Davidsson L, Fontaine O, Hotz C. Conclusions of the joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG interagency meeting on zinc status indicators. *Food Nutr Bull* 2007; 28: S480-S484.
16. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 18th ed.; AOAC International: 2005. Gaithersburg, MD, USA: AOAC International; 2005.
17. Sanjur D, Rodríguez M. Evaluación de la ingesta dietaria: aspectos selectos en la colección y el análisis de datos. Ithaca, NY: College of Human Ecology. Cornell University; 1997.
18. ESHA. Food Processor II Program. ESHA Research Editor EUA. 2007.
19. Grijalva M, Caire G, Sánchez A, Valencia M. Composición química, fibra dietética y contenido de minerales en alimentos de consumo frecuente en el noroeste de México. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1995; 45: 145-50.
20. Dallman PR, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA, eds. *Hematology of infancy and childhood*. 4a. ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1993. pp. 413-450.
21. Secretaría-de-Salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA2-1993, Control de la nutrición, crecimiento y desarrollo del niño y del adolescente. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio. In: *Diario-Oficial-de-la-Federación*, ed. México: Gobierno Federal; 1994.
22. Villalpando-Hernández S. Anemia, deficiencia de ferritina, folatos y vitamina B12 (<http://www.congisp2013.org/programa/presentaciones/Salvador%20Villalpando%20-%20Presentacion%20micronutrininosCongreso.pdf>). In: Instituto-Nacional-de-Salud-Pública, ed. Cuenavaca, Mor.: 15 Congreso de Investigación en Salud Pública; 2013.
23. Grijalva MI, Valencia ME, Ortega MI, Vera A. Evaluación de un programa de desayunos escolares en zonas rurales del estado de Sonora. Hermosillo, Sonora: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.; 1997.
24. Valencia ME, Astiazaran H, Esparza J, González L, Grijalva MI, Cervera A, Zazueta P. Vitamin A deficiency and low prevalence of anemia in Yaqui Indian children in Northwest Mexico. *J Nutr Sci Vitaminol* 1999; 45: 747-5-57.
25. Valencia ME, Wong P, Gonzalez L, Esparza J. Evaluación y diagnóstico del estado de nutrición de la tribu Yaqui, Reporte técnico. Hermosillo, Sonora: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.; 1995.
26. López G. Experience with complementary feeding in the FONCODES project. *Food and Nutrition Bulletin* 2000; 21: 43-8.
27. Maulen-Radovan I, Villagómez S, Soler E, Villicaña R, Hernández-Ronquillo L, Rosado JL. Impacto nutricional del consumo de una leche entera adicionada con vitaminas y minerales en niños. *Salud Pública de México* 1999; 41: 389-96.
28. Rivera JA, Sotres-Alvarez D, Habicht J, Shamah T, Villalpando S. Impact of the mexican program for education, health, and nutrition (progesa) on rates of growth and anemia in infants and young children: A randomized effectiveness study. *JAMA* 2004; 291: 2563-70.
29. Pérez-Expósito AB, Villalpando S, Rivera JA, Griffin IJ, Abrams SA. Ferrous Sulfate Is More Bioavailable among Preschoolers than Other Forms of Iron in a Milk-Based Weaning Food Distributed by PROGRESA, a National Program in Mexico. *The Journal of Nutrition* 2005; 135: 64-9.
30. Morales-Ruán MC, Villalpando S, García-Guerra A, Shamah-Levy T, Robledo-Pérez R, Ávila-Arcos MA, Rivera JA. Iron, zinc, copper and magnesium nutritional status in Mexican children aged 1 to 11 years. *Salud Pública de México*; 54: 125-34.
31. Rivera JA, Shamah T, Villalpando S, Monterrubio E. Effectiveness of a large-scale iron-fortified milk distribution program on anemia and iron deficiency in low-income young children in Mexico. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2010; 91: 431-9.
32. Villalpando S, Shamah T, Rivera JA, Lara Y, Monterrubio E. Fortifying Milk with Ferrous Gluconate and Zinc Oxide in a Public Nutrition Program Reduced the Prevalence of Anemia in Toddlers. *The Journal of Nutrition* 2006; 136: 2633-7.
33. Villalpando S, Shamah-Levy T, Ramírez-Silva CI, Mejía-Rodríguez F, Rivera JA. Prevalence of anemia in children 1 to 12 years of age: results from a nationwide probabilistic survey in Mexico. *Salud Pública de México* 2003; 45: 490-8.