



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

**JOYCE GOMES DE MORAES**

---

---

**CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA FUNCIONAL EM  
CRIANÇAS: ALIMENTAÇÃO E OCORRÊNCIA DE  
*BIFIDOBACTERIUM* E *LACTOBACILLUS* NA  
MICROBIOTA FECAL.**

---

---

**Recife  
2014**

**JOYCE GOMES DE MORAES**

**CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA FUNCIONAL EM  
CRIANÇAS: ALIMENTAÇÃO E OCORRÊNCIA DE  
*BIFIDOBACTERIUM E LACTOBACILLUS*  
NA MICROBIOTA FECAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente.

**Orientadora**

Profa. Dra. Giselia Alves Pontes da Silva

**Área de Concentração:**

Abordagens Quantitativas em Saúde

**Linha de Pesquisa:**

Avaliação bioquímica , molecular, sensório-motora e nutricional das doenças gastrointestinais orgânicas e funcionais

**RECIFE  
2014**

Catalogação elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa- CRB4-1010

M827c Moraes, Joyce Gomes de.  
Constipação intestinal crônica funcional em crianças: alimentação e ocorrência de bifidobacterium e lactobacillus na microbiota fecal / Joyce Gomes de Moraes. – Recife: O autor, 2014.  
89 f.: il.; tab.; quadr.; 30 cm.

Orientadora: Giselia Alves Pontes da Silva.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, 2014.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Constipação intestinal. 2. Crianças. 3. Microbiota. 4. Bifidobacterium. 5. Lactobacillus. I. Silva, Giselia Alves Pontes da (Orientadora). II. Título.

618.92

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-165)

JOYCE GOMES DE MORAES

**CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA FUNCIONAL EM CRIANÇAS:  
INGESTÃO DE FIBRAS E PERFIL DE BIFIDOBACTERIUM E LACTOBACILLUS  
NA MICROBIOTA FECAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Saúde da Criança e do Adolescente.

Aprovada em: 25/06/2014

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarida Maria de Castro Antunes (Examinador Interno)  
Presidente  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Galeão Brandt (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Poliana Coelho Cabral (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Prof. Dr. Silvio Romero Barros Marques

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

**DIRETOR CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**VICE-DIRETORA**

Profa. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

**COORDENADORA DA COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO CCS**

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

**COLEGIADO**

**CORPO DOCENTE PERMANENTE**

Profa. Dra. Luciane Soares de Lima (Coordenadora)

Profa. Dra. Claudia Marina Tavares de Arruda (Vice-Cordenadora)

Prof. Dr. Alcides da Silva Diniz

Profa. Dra. Ana Bernarda Ludermir

Profa. Dra. Andréa Lemos Bezerra de Oliveira

Prof. Dr. Décio Medeiros Peixoto

Prof. Dr. Emanuel Savio Cavalcanti Sarinho

Profa. Dra. Estela Maria Leite Meirelles Monteiro

Profa. Dra. Gisélia Alves Pontes da Silva

Profa. Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta

Profa. Dra. Maria Gorete Lucena de Vasconcelos

Profa. Dra. Marília de Carvalho Lima

Prof. Dr. Paulo Sávio Angeiras de Góes

Prof. Dr. Pedro Israel Cabral de Lira

Profa. Dra. Rosemary de Jesus Machado Amorim

Profa. Dra. Sílvia Regina Jamelli

Profa. Dra. Sílvia Wanick Sarinho

Profa. Dra. Sophie Helena Eickmann

(Leila Maria Álvares Barbosa - Representante discente - Doutorado)

(Catarine Santos da Silva - Representante discente -Mestrado)

**CORPO DOCENTE COLABORADOR**

Profa. Dra. Ana Cláudia Vasconcelos Martins de Souza Lima

Profa. Dra. Bianca Arruda Manchester de Queiroga

Profa. Dra. Cleide Maria Pontes

Profa. Dra. Daniela Tavares Gontijo

Profa. Dra. Margarida Maria de Castro Antunes

Profa. Dra. Rosalie Barreto Belian

Profa. Dra. Sônia Bechara Coutinho

**SECRETARIA**

Paulo Sergio Oliveira do Nascimento (Secretário)

Juliene Gomes Brasileiro

Janaína Lima da Paz

## ***Agradecimentos***

---

---

A **Deus**, por iluminar meus caminhos e por me dar forças para prosseguir. Ao meu pai, **Hely Salles** (*in memoriam*), por ter me dado o primeiro livro, me estimulando o hábito da leitura desde a tenra idade e por ter financiado, com muito esforço, amor e carinho, vários anos de estudo. A minha mãe **Marli Moraes**, pelo constante incentivo e cuidado com a minha educação, principalmente na minha formação acadêmica, por toda dedicação, amor e compreensão das minhas ausências.

Ao meu marido, **Bruno Calazans**, por sempre me incentivar a estudar e me inscrever na seleção do Mestrado, por me apoiar nos momentos mais difíceis e sempre acreditar em mim. Sem você, essa conquista nunca seria possível. Ao meu filho **Hely** por tentar, na sua imaturidade infantil, compreender a minha ausência. À minha filha **Helenna** por me ajudar a prosseguir, mesmo no meu ventre.

A minha orientadora **Maria Eugênia Motta** por ser a primeira a acreditar no meu projeto, dando “forma acadêmica” ao mesmo. A minha orientadora **Giselia Alves** por ter me estendido a mão no momento mais difícil do meu mestrado, me acolhendo com atenção, carinho, grandiosa paciência e com lições valiosas sobre *ciência*.

A **Monique Ferraz** e a **Taciana Lima** pela realização de todas as análises moleculares e por todos os esclarecimentos prestados com muita paciência. Vocês realmente *abraçaram* o projeto.

As minhas amigas de trabalho, **Arielle Milet**, **Marcella Moreira** e **Thania Maion**, por todos os momentos de apoio, incentivo, desabafo, sugestões e grande auxílio nas minhas ausências. E a minha amiga de trabalho, **Ana Paula**, por retirar todas as minhas dúvidas em

Biologia Molecular com grande paciência e por me ouvir e me incentivar em todos os momentos. Vocês tornaram todo esse processo mais leve.

A minha amiga **Isabela Morais** e toda a sua equipe de **Agentes Comunitários de Saúde** por toda paciência, dedicação e tempo dispendidos na minha coleta e por acreditarem de coração nesse projeto. Não tenho nem palavras para agradecer.

As minhas amigas e companheiras de mestrado, **Amanda Guimarães, Manuelly Santos, Maria Elisa Farias e Juliana Romanzeira**, por todos os momentos de alegria, dúvidas, incertezas e apoio incondicional que compartilhamos juntas. Vocês tornaram tudo mais fácil.

Aos meus **companheiros de jornada** do Centro Espírita Lar de Maria e Manoel, em especial à **Lúcia, Francisco, Amaro e Djair**, por todo apoio, amizade, esclarecimentos e orações nos meus momentos de dúvidas e incertezas.

Aos funcionários da secretaria, **Paulo, Juliene e Janaina**, pela atenção e por sempre estarem dispostos a auxiliar. Em especial, **Paulo** por toda paciência em me ouvir e por sempre “lançar luz” nos meus momentos de estudo.

Aos queridos **amigos da 27ª turma** do mestrado, pela amizade e companheirismo nessa nossa trajetória.

“Ninguém pode voltar atrás e fazer um novo começo.

Mas qualquer um pode recomeçar e fazer um novo  
fim”.

**(Francisco Xavier)**

## Resumo

---

---

A Constipação Intestinal Crônica Funcional (CICF) é uma entidade nosológica complexa e multifatorial. Constitui a maior causa de constipação intestinal na população infantil, com frequência significativa em lactentes. Estudos mostram que crianças com CICF apresentam a microbiota alterada, sendo o baixo teor de fibras na dieta considerado como uma possível explicação para esse achado. O nosso objetivo foi: comparar crianças constipadas e não constipadas quanto à microbiota fecal, utilizando como modelo os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*; analisar o consumo de frutas, legumes, vegetais e guloseimas nos dois grupos de crianças e verificar se houve associação do tipo de parto, presença de aleitamento materno, prematuridade, história familiar de constipação e a presença de CICF. As crianças foram recrutadas no Centro de Saúde Antônio Luís de Souza (CSALS), em Camaragibe-PE. Foram considerados casos crianças entre seis e 36 meses de idade que preencheram os critérios de Roma III para CICF. O grupo comparativo tinha a mesma faixa etária. O grupo caso foi formado por 39 crianças e o comparativo, por 40 crianças. As mães das crianças responderam a formulários sobre eventos do pré-natal e pós-natal imediato, aleitamento e condições econômicas. Foi realizada avaliação nutricional e da ingestão alimentar das crianças, sendo a última por intermédio de um questionário de frequência alimentar. As crianças tiveram amostras de fezes coletadas e analisadas por SYBR® Green. Não houve diferença estatística entre o consumo de frutas, legumes, verduras e guloseimas entre os grupos. As crianças constipadas consumiram significativamente mais produtos lácteos ( $p > 0,001$ ) quando comparadas às crianças não constipadas. Não houve diferença estatística quanto ao teor de *Bifidobacterium* por miligramas de fezes entre os grupos, as crianças constipadas apresentaram um teor significativamente menor de *Lactobacillus* por miligramas de fezes ( $p=0,015$ ) quando comparadas às crianças não constipadas. Foi verificado ainda que entre as crianças constipadas uma maior freqüência de parto cesáreo, menor tempo de aleitamento materno e história familiar para constipação positiva.

**Palavras-chave:** constipação intestinal. crianças. microbiota. *Bifidobacterium*. *Lactobacillus*. fibras na dieta.

---

## ***Abstract***

---

Functional Chronic Constipation (FCC) is a complex and multifactorial nosological entity. It is a major cause of constipation in children with a significant frequency in infants. Studies show that children with FCC have an altered microbiota, and low fiber content in the diet considered as a possible explanation for this finding. The objective of this study was: to compare constipated and not constipated infants according to the fecal microbiota, using as model the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* genera; analyze the consumption of fruits, vegetables and treats for both groups of infants and determine whether there was an association between type of delivery, presence of breastfeeding, prematurity, family history of constipation and FCC. The children were recruited at the Health Center Luís Antônio de Souza in Camaragibe-PE. To determine the Case group, they were considered children between six and 36 months of age who met the Rome III criteria for FCC. The control group was same age, but did not meet the prerequisite of Roma III criteria. The case group consisted of 39 children and the comparative group of 40 children. The mothers of the children responded to events of prenatal, immediate breastfeeding and also postnatal and economic conditions. Nutritional evaluation and dietary intake of the children were performed, the latter via a food frequency questionnaire. The children had stool samples collected and analyzed by SYBR ® Green. There was no statistical difference between the consumption of fruits, vegetables and sweets between the groups. Constipated children consumed significantly more dairy products ( $p > 0.001$ ) when compared with children not constipated. There was no statistical difference in the content of *Bifidobacterium* per milligram of feces between groups. Constipated children have had a significantly lower content of *Lactobacillus* per milligram of feces ( $p = 0.015$ ) when compared with children not constipated. It was also found that, among constipated children, there was a higher frequency of cesarean delivery, shorter breastfeeding and positive family history for constipation.

**Keywords:** constipation. infants. microbiota. *Bifidobacterium*. *Lactobacillus*. dietary fiber.

## ***Listas de Ilustrações***

---

---

### **Revisão da literatura**

<b>Figura 1</b>	Modelo explicativo da constipação intestinal crônica funcional	22
-----------------	--	----

<b>Quadro 1</b>	Estudos de intervenção com probióticos	31
-----------------	--	----

### **Método**

<b>Quadro 2</b>	Pontos de corte de IMC-para-idade para crianças menores de 5 anos	41
-----------------	---	----

<b>Quadro 3</b>	<i>Primers</i> de grupos na PCR em tempo real	44
-----------------	---	----

<b>Figura 2</b>	Fluxograma de análise das amostras coletadas	47
-----------------	--	----

### **Resultados**

<b>Gráfico 1</b>	Total de bactérias por mg de fezes de acordo com os dois grupos estudados	52
------------------	---	----

<b>Gráfico 2</b>	Gênero <i>Lactobacillus</i> por miligramas de fezes de acordo com os dois grupos estudados	52
------------------	--	----

<b>Gráfico 3</b>	Gênero <i>Bifidobacterium</i> por miligramas de fezes de acordo com os dois grupos estudados	52
------------------	--	----

## ***Lista de Tabelas***

---

---

### **Resultados**

<b>Tabela 1</b>	Sexo, estado nutricional, idade, idade materna e avaliação socioeconômica de acordo com os grupos estudados	49
<b>Tabela 2</b>	Tipo de parto, prematuridade, tempo de aleitamento e história familiar de constipação das crianças nos dois grupos estudados	50
<b>Tabela 3</b>	Mediana e intervalos interquartílicos de escores de frequência de consumo alimentar de acordo com os dois grupos estudados	51

## ***Lista de Abreviaturas e Siglas***

---

---

<b>ABEP</b>	– Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
<b>AGCC</b>	– Ácidos graxos de cadeia curta
<b>CCEB</b>	– Critério de Classificação Econômica Brasil
<b>CICF</b>	– Constipação intestinal crônica funcional
<b>CSALS</b>	– Centro de Saúde Antônio Luís de Souza
<b>DFGIs</b>	– Doenças Funcionais Gastrointestinais
<b>EPIs</b>	– Equipamento de proteção individual
<b>FAO/WHO</b>	– Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization
<b>HC-UFPE</b>	– Hospital das Clínicas
<b>IMC</b>	– Índice de Massa Corporal
<b>LIKA</b>	– Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
<b>OMS</b>	– Organização Mundial de Saúde
<b>PACS</b>	– Programa de Agentes Comunitários de Saúde
<b>PCR</b>	– Reação em cadeia da polimerase
<b>QFA</b>	– Questionário de Frequência Alimentar
<b>SISVAN</b>	– Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional
<b>TCLE</b>	– Termo de consentimento livre e esclarecido
<b>TGI</b>	– Trato Gastrointestinal
<b>UFPE</b>	– Universidade Federal de Pernambuco

# ***Sumário***

---

---

<b>1</b>	<b>APRESENTAÇÃO</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>20</b>
2.1	Introdução	20
2.2	CICF: o papel da microbiota intestinal	23
2.3	CICF: o papel das fibras	26
2.4	O uso de probióticos na CICF	30
2.5	Considerações finais	34
<b>3</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>36</b>
3.1	Delineamento do estudo	36
3.2	Local e período do estudo	36
3.3	Definição do grupo caso e do grupo comparativo	36
3.4	Critérios de exclusão	37
3.5	Variáveis do estudo	38
3.6	Operacionalização do estudo	39
3.6.1	<i>Recrutamento</i>	39
3.6.2	<i>Identificação</i>	39
3.6.3	<i>Coleta de dados</i>	39
3.6.4	<i>Coleta de fezes</i>	39
3.6.5	<i>Transporte e armazenagem das amostras</i>	40
3.7	Avaliação antropométrica	40
3.8	Avaliação nutricional	41
3.9	Avaliação do consumo alimentar	41
3.10	Avaliação socioeconômica	42
3.11	Analises laboratoriais da microbiota fecal	43
3.11.1	<i>Reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real</i>	43
3.11.2	<i>Etapas da análise por PCR em tempo real( SYBR® Green)</i>	43
3.12	Plano de análise	44
3.13	Aspectos éticos	45
3.14	Limitações metodológicas	46
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>62</b>
	<b>APÊNDICES</b>	
	<b>APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>	<b>72</b>

**APÊNDICE B – Formulário de coleta de dados**

<b>ANEXOS</b>	<b>80</b>
<b>ANEXO A – Questionário de sintomas gastrointestinais pediátrico</b>	
<b>ANEXO B – Questionário de frequência alimentar</b>	
<b>ANEXO C – Critério de classificação econômica Brasil</b>	
<b>ANEXO D – Parecer consubstanciado do CEP</b>	

---

# *1 APRESENTAÇÃO*

## **1 Apresentação**

---

---

A Constipação Intestinal Crônica Funcional (CICF) é uma entidade que apresenta elevada frequência na população, de modo especial na faixa pediátrica (DEL CIAMPO *et al.*, 2002; AGUIRRE *et al.*, 2002; MOTTA & SILVA, 1998). Nota-se que devido a morbidade discreta (MAFFEI *et al.*, 1994) e por muitos dos casos não constituírem queixa espontânea por parte dos pais, pois esses tendem a acreditar que ela só existe se a criança passar dias sem evacuar, (DEL CIAMPO *et al.*, 2006), a CICF ainda não recebe a merecida atenção dos profissionais de saúde e dos genitores das crianças.

O Consenso de Roma desde sua primeira publicação, em 1980, tem colaborado na criação de conceitos que definem o diagnóstico de CICF e de outras Doenças Funcionais Gastrointestinais (DFGIs). A CICF possui uma fisiopatologia complexa e multifatorial (LOENING-BAUCKE, 1993). Desde 1972, através dos estudos de Burkitt, a alimentação, principalmente o seu conteúdo em fibras tem sido relacionada com a constipação intestinal devido ao seu papel na modulação da motilidade intestinal (BURKITT *et al.*, 1972). Atualmente, estudos têm apontado para o papel da microbiota intestinal pelas alterações em sua composição durante a CICF (KHALIF *et al.*, 2005; ZOPPI *et al.*, 1998) e pelo poder que a alimentação tem em sua modulação (DE FILIPPO *et al.*, 2010). Mas, apesar dos achados recentes, os estudos sobre microbiota intestinal infantil nas diversas doenças continuam escassos (ÁLVAREZ-CALATAYUD *et al.*, 2013).

A motivação desta pesquisa surgiu da minha experiência, em ambulatórios públicos, em vivenciar diferentes respostas ao tratamento dietoterápico de crianças com CICF. Umas respondiam muito bem a dieta laxante, rica em fibras. Já outras, nem tanto. Como a microbiota intestinal sempre me despertou interesse desde a especialização e como existem poucos estudos nacionais sobre o tema, fiquei estimulada a contribuir, mesmo que de forma singela, elaborando um projeto de pesquisa sobre CICF em crianças e microbiota para seleção do Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Assim, a presente dissertação foi planejada e conduzida para responder as seguintes perguntas:

1. Crianças com CICF possuem um menor número de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em sua microbiota fecal quando comparados a crianças sem CICF?
2. Crianças com CICF apresentam um consumo alimentar com menor frequência de frutas, legumes e verduras e uma maior frequência no consumo de guloseimas quando comparados a crianças sem CICF?

A hipótese formulada foi: Crianças com CICF apresentam um menor número de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em sua microbiota fecal e apresentam um consumo alimentar mais frequente em guloseimas e menos frequente em frutas, legumes e verduras quando comparados a crianças sem CICF.

A dissertação atende aos seguintes objetivos:

1. Comparar a microbiota fecal de crianças constipadas e não constipadas, utilizando como modelo os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*
2. Avaliar se há diferença na frequência de consumo de frutas, legumes, verduras e guloseimas entre as crianças constipadas e não constipadas.

A dissertação está apresentada na forma de um capítulo de revisão da literatura, um capítulo de métodos, um de resultados e outro de discussão.

O capítulo de revisão da literatura foi estruturado para abranger aspectos da fisiopatologia, com destaque para o papel das fibras e da microbiota.

O capítulo de método descreve o planejamento, operacionalização da pesquisa e análise de dados.

Os capítulos sobre os resultados e discussão abordam os resultados obtidos e a discussão dos mesmos, respectivamente.

A presente dissertação se destina à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente pela aluna Joyce Gomes de Moraes. Inicialmente, foi planejada e orientada pela Professora Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta contudo, devido a problemas de saúde, a finalização foi orientada pela Professora Dra. Giselia Alves Pontes Silva. O estudo se insere na linha de pesquisa avaliação bioquímica, molecular, sensório-motora e nutricional das doenças gastrointestinais orgânicas e funcionais, área de concentração: Abordagens quantitativas em saúde.

## ***2 REVISÃO DA LITERATURA***

---

## ***2 Revisão da Literatura***

---

---

### ***2.1 Introdução***

A constipação intestinal crônica funcional (CICF) na criança é uma entidade nosológica que de acordo com os critérios preconizados pelo Consenso Roma III, elaborados para orientar o diagnóstico e a conduta das desordens funcionais do trato gastrointestinal, tem como base a presença de pelo menos duas das manifestações a seguir por, pelo menos, o período de um mês, em menores de quatro anos de idade: (1) duas ou menos evacuações por semana; (2) pelo menos um episódio de incontinência involuntária de fezes por semana, após aquisição do controle esfincteriano anal; e (3) retenção excessiva de fezes (HYMAN *et al.*, 2006).

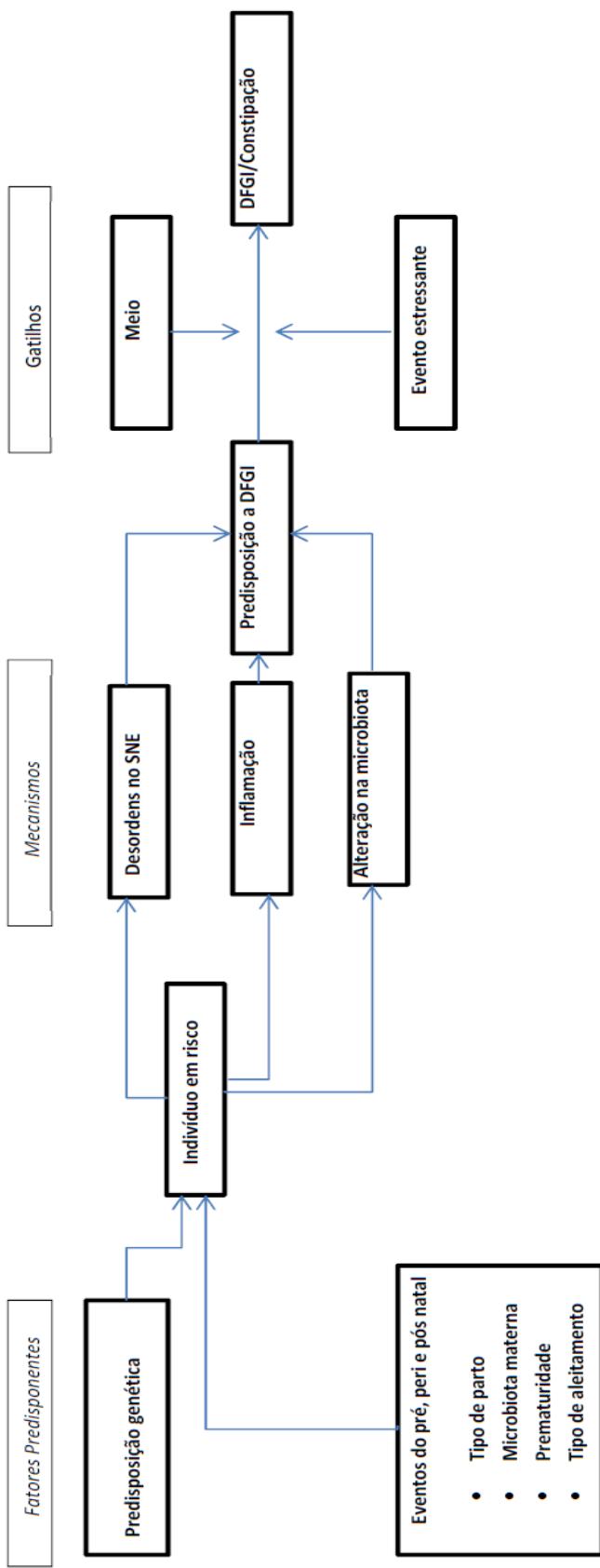
A CICF pode ainda ser classificada como primária funcional simples, quando a motilidade intestinal é normal, e primária funcional de difícil manejo relacionada a alterações na motilidade como trânsito colônico lento, por exemplo (SOUTHWELL *et al.*, 2005).

Constitui uma entidade de elevada frequência na população infantil, e corresponde acerca de 25% dos atendimentos em consultórios de Gastroenterologia Pediátrica. Estudos realizados em território nacional, inclusive na cidade de Recife, relatam uma prevalência significativa em lactentes com valores que variam de 21,8% a 25,1% (AGUIRRE *et al.*, 2002; DEL CIAMPO *et al.*, 2002; MEDEIROS *et al.*, 2007; MOTTA & SILVA, 1998).

Atualmente, de acordo com publicações da literatura científica, a abordagem da CICF e de outras Doenças Funcionais Gastrointestinais (DFGIs) é embasada no conceito de que a interação corpo e mente constitui parte de um sistema que, quando desequilibrado, pode produzir enfermidades. A adoção dessa compreensão integrada, pelo Consenso de Roma III, aplicando-se o modelo de Engel, auxilia na explicação de como fatores biológicos, sócio-culturais e psicológicos podem influenciar no quadro de CICF (ENGEL, 1977).

A gênese da CICF é complexa estando envolvidos vários fatores: história familiar para constipação, relacionada a polimorfismos genéticos e compartilhamento da microbiota intestinal pelo ambiente familiar em comum (KOCAAAY *et al.*, 2010; VAISHAMPAYAN *et al.*, 2010); microbiota materna alterada, uma vez que pode existir similaridade entre a microbiota de mães e filhos devido ao compartilhamento de microbiota entre os pares (ALBESHARAT *et al.*, 2011; LEBON *et al.*, 2010; PALMER *et al.*, 2007); a prematuridade, caracterizada pela imaturidade do trato gastrointestinal (TGI) e o uso de antibióticos (PENDERS *et al.*, 2006) que se associam a alterações na microbiota intestinal, inflamação e desordens no Sistema Nervoso Entérico (SNE) (Figura 1).

Figura 1- Modelo explicativo da constipação intestinal crônica funcional



Fonte: Adaptado de Lorenzo, 2013

Por sua vez, as alterações quali-quantitativas na composição da microbiota intestinal (ATTALURI *et al.*, 2010; ONO *et al.*, 2008), a inflamação da mucosa do intestino devido a processos de ativação celular (GWEE *et al.*, 2003) e a disfunção sensório motora do colón repercutem na motilidade intestinal (ZARATE *et al.*, 2011; DINNING *et al.*, 2011) contribuindo na gênese da CICF. Vários *gatilhos* ambientais têm sido descritos, tais como o estresse (BENDTSEN *et al.*, 2012; BAROUEI *et al.*, 2012) e diversos outros fatores, sendo a dieta considerado o mais relevante (POKUSAEVA *et al.*, 2010; DE FILIPPO *et al.*, 2010; WALKER *et al.*, 2005)

De acordo com a literatura consultada, a CICF em crianças pequenas é classificada como CICF simples, e na maioria dos casos pode ser explicada por alterações funcionais devido a problemas como alimentação com baixo teor de fibras, treinamento do toalete inadequado e experiência dolorosa (SOYLU *et al.*, 2013; WEBER & POLANCO, 2012; MUGGIE *et al.*, 2011; RASQUIN-WEBER *et al.*, 1999).

É sugerido que a microbiota intestinal da criança com CICF apresenta-se de forma alterada (ZOPPI *et al.*, 1998), sendo a alimentação, principalmente as fibras, conceitualmente, o fator com a maior capacidade de modular essa alteração (POKUSAEVA *et al.*, 2010; DE FILIPPO *et al.*, 2010; WALKER *et al.*, 2005).

Assim sendo, a presente revisão tem como objetivo abordar a fisiopatologia da CICF sob o enfoque do papel da microbiota intestinal e das fibras alimentares nesse processo.

Foram revisados artigos indexados nas fontes de informação em ciências da saúde da MEDLINE e SCOPUS. Utilizou-se ainda o banco de dados do SCIELO, da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), BIREME-OPAS-OMS, no período de 1977 a 2013, com os seguintes descritores: constipação intestinal, lactentes, crianças, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, microbiota, probióticos, prebióticos, aleitamento materno, fibras na dieta.

## 2.2 CICF: O papel da microbiota intestinal

Estudos têm associado à alteração da microbiota intestinal com desordens gastrointestinais funcionais, principalmente a constipação funcional. Acredita-se que a microbiota intestinal alterada desregule o SNE, além de contribuir com um processo inflamatório de baixa intensidade, exercendo um importante papel na patogênese desses distúrbios. (SIMRÉN *et al.*, 2012; BERCIK, 2011; BERCIK *et al.*, 2011)

As bactérias que iniciam a colonização do trato digestório na criança são de relevância para a configuração da microbiota definitiva, possibilitam a criação de um ambiente favorável à colonização com microorganismos *saudáveis* (DECKER *et al.*, 2011; PALMER *et al.*, 2007).

Sabe-se que a microbiota materna, principalmente a de origem intestinal, constitui a peça chave do processo de colonização intestinal em recém-nascidos por constituir fonte predominante da colonização inicial (MUINCK *et al.*, 2011; ALBESHARAT *et al.*, 2010; GRÖNLUND *et al.*, 2011). Com o advento das análises moleculares, foi possível observar que a microbiota materna é transferida para a criança por um processo denominado de verticalização que pode ocorrer através do canal do parto e/ou aleitamento materno (ALBESHARAT *et al.*, 2011; TAKASHI *et al.*, 2010; DOMINGUEZ-BELLO *et al.*, 2010; MARTÍN *et al.*, 2003). Dessa forma, durante a passagem no canal vaginal, as crianças acabam por adquirir cepas da microbiota materna (DOMINGUEZ-BELLO *et al.*, 2010; VAISHAMPAYAN *et al.*, 2009). Durante o aleitamento materno, acredita-se que pode ocorrer translocação de cepas da microbiota intestinal materna, através da via entero-mamária, o que possibilitaria a presença dessas cepas no leite materno (ALBESHARAT *et al.*, 2011; HUNT *et al.*, 2011).

Grönlund *et al.* (2011) observaram associação entre a microbiota fecal materna e das crianças no primeiro mês após o nascimento no tocante a cepas de *bifidobactérias*. No entanto, nenhuma associação foi observada aos seis meses de vida. Esses achados sugerem que a microbiota fecal materna exerce importante efeito na colonização inicial, porém o processo de implantação da microbiota fecal da criança também sofre a influência de outros fatores (GRÖNLUND *et al.*, 2011; DECKER *et al.*, 2011; PENDERS *et al.*, 2006; SATOKARI *et al.*, 2002).

Ainda quanto ao gênero *Bifidobacterium*, cepas de *Bifidobacterium longum* geneticamente idênticas foram isoladas na microbiota fecal de lactentes, na faixa etária de até 90 dias, e na microbiota fecal de suas mães (MAKINO *et al.*, 2012). Em outro estudo com o mesmo gênero bacteriano, crianças japonesas e europeias compartilhavam as cepas dominantes de sua microbiota intestinal, respectivamente *B.breve* e *B.longum*, com sua mães (TAKAHASHI *et al.*, 2010).

Quanto ao gênero *Lactobacillus*, Martín *et al.* (2006) utilizando técnicas de análises moleculares verificaram que as bactérias desse gênero na microbiota fecal de crianças apresentam similaridade com as bactérias do mesmo gênero encontradas no leite materno, no sétimo dia após o parto (MARTÍN *et al.*, 2006). Outro estudo verificou, através da mesma técnica, que a composição da microbiota fecal dos lactentes e de suas mães e do leite materno apresentavam similaridade, principalmente em relação às bactérias do gênero *Lactobacillus* (ALBESHARAT *et al.*, 2011).

O ambiente também seria um dos fatores iniciais a exercerem influência no processo de colonização da microbiota intestinal da criança (PANDEY *et al.*, 2012; MITSOU *et al.*, 2008;

ALBESHARAT *et al.*, 2011; DOMINGUEZ-BELLO *et al.*, 2010; MARTÍN *et al.*, 2006) Um estudo com bebês observou que os nascidos de parto vaginal possuem uma microbiota fecal semelhante à microbiota materna (DOMINGUEZ-BELLO *et al.*, 2010). Enquanto que os bebês nascidos de parto cesáreo recebem a contribuição da microbiota do ambiente, o que promove uma microbiota fecal mais diversificada (MITSOU *et al.*, 2008; PANDEY *et al.*, 2012). As crianças nascidas de parto cesáreo são ainda colonizadas de forma retardada, com menor número de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides spp.* (MITSOU *et al.*, 2008), alteração semelhante à encontrada na CICF (KHALIF *et al.*, 2005).

Sobre o leite materno, a literatura sugere que a sua própria composição favorece a colonização de bactérias probióticas no intestino, principalmente as bifidobactérias, devido ao seu alto teor de lactose associado à baixa quantidade de caseína e fosfato de cálcio (BERZITZOGLOU *et al.*, 2006). O leite materno também é rico em oligossacarídeos, compostos com efeitos prebiótico (FAN *et al.*, 2014; YU *et al.*, 2013; GARRIDO *et al.*, 2013), os quais tradicionalmente não são digeridos e estimulam especificamente bactérias benéficas no intestino (VAN DEN ABBEELE *et al.*, 2013; BRÜSSOW, 2013).

Outro fator no leite materno que favoreceria o processo de colonização seria a presença de micro-organismos em sua composição como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; BERZITZOGLOU & STAVROPOULOU, 2011; GUEIMONDE *et al.*, 2007; LARA-VILOSLADA *et al.*, 2007 ; MARTÍN *et al.*, 2009).

O aleitamento artificial também é capaz de modificar a microbiota intestinal por promover uma maior diversidade associada a um desenvolvimento de bactérias anaeróbicas restritas (FAN *et al.*, 2014; AZAD *et al.*, 2013; SHEN *et al.*, 2011). As crianças em aleitamento artificial apresentam uma microbiota fecal mais variada (FAN *et al.*, 2014; FAVIER *et al.*, 2002), com a presença, inclusive, de micro-organismos potencialmente patogênicos como o *Clostridium difficile* (AZAD *et al.*, 2013; PENDERS *et al.*, 2006; PENDERS *et al.*, 2005). Ainda apresentam um menor número de bifidobactérias em sua microbiota fecal quando comparadas àquelas em aleitamento materno (ROGER & MCCARTNEY, 2010; PENDERS *et al.*, 2006).

Hopkins *et al.* (2005) encontraram um percentual duas a vinte vezes maior de bifidobactérias na microbiota fecal de crianças menores de seis meses, em aleitamento materno, em relação àquelas em aleitamento artificial (HOPKINS *et al.*, 2005). Resultados semelhantes foram encontrados por Fan *et al.* (2014) na mesma faixa etária, ao comparar crianças em aleitamento artificial com aquelas em aleitamento misto (FAN *et al.*, 2014).

Outro estudo detectou que crianças em aleitamento artificial apresentam menos bactérias do gênero *Lactobacillus* em sua microbiota oral quando comparadas àquelas em aleitamento

materno exclusivo (VESTMAN *et al.*, 2013). Haarman & Knol (2006) encontram resultados semelhantes ao compararem a microbiota fecal de crianças em aleitamento artificial e materno.

Sobre constipação intestinal, é referido que durante esse quadro a microbiota apresenta alteração caracterizada por baixo número de bifidobactérias (KHALIF *et al.*, 2005; ONO *et al.*, 2008) e de lactobacilos (KHALIF *et al.*, 2005) e um aumento no número de metanógenos (FURNARI *et al.*, 2012; ATTALURI *et al.*, 2010), assim como de fungos e bactérias patogênicas (KHALIF *et al.*, 2005). Tradicionalmente, as bifidobactérias constituem um ótimo marcador para alterações na microbiota, a disbiose (MATAMOROS *et al.*, 2012; MATSUKI *et al.*, 2009). Já os lactobacilos apresentam-se em número significativo na microbiota fecal, sendo altamente prevalentes em crianças saudáveis (MIKANI *et al.*, 2009).

Attaluri *et al.* (2010) encontraram uma prevalência de 75% de metanógenos e trânsito lento em seus pacientes constipados quando comparados ao grupo controle, no qual a prevalência de metanógenos foi de 44% (ATTALURI *et al.*, 2010).

Khalif e colaboradores (2005) detectaram que pacientes constipados possuem em sua microbiota intestinal um menor número de bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* quando comparados a pacientes sem constipação intestinal (KHALIF *et al.*, 2005). Alguns trabalhos associaram ainda a constipação intestinal a um supercrescimento bacteriano no intestino (FURNARI *et al.*, 2012; SIMRÉN *et al.*, 2012; ATTALURI *et al.*, 2010; MADRI *et al.*, 2006), com um aumento anormal do número de bactérias no intestino delgado (GROVER *et al.*, 2008).

Tanto as alterações quali-quantitativas da microbiota intestinal como o supercrescimento bacteriano estão relacionados com a redução da peristalse por mecanismos ainda não totalmente elucidados (FURNARI *et al.*, 2012; ATTALURI *et al.*, 2010; MADRID *et al.*, 2006). Conceitualmente, são classificadas como disbiose, contudo ainda não ficou esclarecido se a disbiose é consequência da constipação ou um dos fatores causais (BRÜSSOW, 2013; TABBERS *et al.*, 2011; CHMIELEWSKA *et al.*, 2010; BANASZKIEWICZ & SZAJEWSKA *et al.*, 2005).

### 2.3 CICF: O papel das fibras

As fibras alimentares constituem a parte comestível das plantas e podem ser classificadas como solúvel e insolúvel. Não são digeridas e/ou absorvidas pelo TGI, sendo fermentadas a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela microbiota intestinal. São consideradas fibras os polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e substâncias associadas a plantas (PROSKY, 2001).

A literatura científica descreve que as fibras solúveis são dispersíveis em água e formam gel. Já as insolúveis correspondem à matriz da fibra. Os alimentos geralmente não apresentam exclusivamente um único tipo de fibra, dessa forma o mesmo alimento pode conter fibras solúveis e insolúveis (MORAIS & MAFFEI, 2000). Inicialmente, os únicos efeitos atribuídos às fibras se referiam a sua solubilidade, em relação a sua ação mecânica exercida no TGI (SLAVIN *et al.*, 2008) contudo achados recentes indicam que a fermentação desses compostos é igualmente importante (POKUSAeva *et al.*, 2011; SLAVIN, 2008; ROMA *et al.*, 1999).

Conceitualmente, a produção de AGCC a partir da fibra alimentar estimula a musculatura lisa e, por conseguinte, reduz o tempo de trânsito intestinal (HOLMA *et al.*, 2010; MUIR *et al.*, 2004) e o pH do meio, promovendo o crescimento da microbiota fecal benéfica (BROWN *et al.*, 2012), principalmente do número de bactérias do gênero *Bifidobacterium*, em especial *B.longum*, *B.breve* e *B.thetaiotaomicron* (BROWN *et al.*, 2012; POKUSAeva *et al.*, 2010), e *Lactobacillus* (KAU *et al.*, 2011; SHEN *et al.*, 2011), e inibição do crescimento de patógenos (BROWN *et al.*, 2012; HAARMAN & KNOL, 2006 ;WALKER *et al.*, 2005).

Ao avaliar os efeitos *in vitro* das fibras na composição da microbiota fecal, através de análises moleculares, foi verificado que pectina e amido resistente promovem o crescimento de bifidobactérias (YANG *et al.*, 2013). Martinez *et al.* (2010) conseguiram resultados semelhantes ao verificar o impacto do consumo de amido resistente na microbiota fecal em seres humanos (MARTINEZ *et al.*, 2010).

Quanto a resposta da microbiota intestinal infantil, De Fillipo *et al.* (2010) relataram que crianças que apresentam uma dieta rica em fibras possuem em sua um número maior de bifidobactérias quando comparadas àquelas que consomem uma dieta com baixo teor desse nutriente (DE FILLIPO *et al.*, 2010). No seu estudo, Bernal *et al.* (2013) observaram resultados semelhantes (BERNAL *et al.*, 2013).

O papel exercido pelas fibras na motilidade intestinal está associado a sua ação na microbiota intestinal. Uma alimentação rica em fibras provoca um tempo de trânsito intestinal menor. Se o tempo de trânsito for menor, existe uma menor proporção no número de espécies de crescimento lento, como os metanógenos, (EL OUFIR *et al.*, 1996), em relação ao número de bactérias redutoras de sulfatos, as quais participam ativamente na produção de AGCC e na redução do pH do meio (JEFFERY & O' TOOLE, 2013).

A presença de fibras também estimula o crescimento de gêneros bacterianos como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, atuantes na motilidade intestinal devido as suas atividades fermentativas e sacarolítica (PAYNE *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2011) Estudos realizados com as bactérias do gênero *Bifidobacterium* demonstraram uma redução de até 38% do tempo de

trânsito intestinal em pacientes com trânsito intestinal lento e de até 42% naqueles com trânsito intestinal normal (BOUVIER *et al.*, 2001; MARTEAU *et al.*, 2002). Já o trabalho de Husebye *et al.* (2001) demonstrou que a associação de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em animais *germ-free* promove um aumento do trânsito no duodeno (HUSEBYE *et al.*, 2001).

Contudo, a literatura relata que a influência das fibras na composição da microbiota intestinal também está relacionada com o tempo de ação. Mudanças nos hábitos alimentares em um período curto de tempo possuem um menor impacto na sua composição. Já hábitos alimentares exercidos por um longo período de tempo constituem um forte determinante da microbiota intestinal (ZOETENDAL & DE VOS, 2014; JEFFERY & O' TOOLE, 2013; BRÜSSOW, 2013; WU *et al.*, 2011; WALTER & LEY, 2011).

É demonstrado que uma alimentação enriquecida com amido resistente é capaz de modificar a microbiota em três dias, mas quando suspensa, os efeitos desaparecem (WALKER *et al.*, 2011). Hábitos alimentares de longa data promovem uma composição de microbiota intestinal específica e mais duradoura. (WU *et al.*, 2011). Contudo, Zhang *et al.* (2010) relatam que as modificações na dieta somente podem explicar 57% das variações estruturais totais da microbiota intestinal, enquanto que aspectos genéticos são responsáveis por mais 12% (ZHANG *et al.*, 2010).

Outro componente da alimentação que favorece a microbiota intestinal são os prebióticos, que são conceituados com substâncias não-digeríveis que promovem seletivamente um crescimento ou atividade de bactérias benéficas da microbiota intestinal (GIBSON *et al.*, 1995). Podem ser classificados como fibras, porém nem toda fibra constitui um prebiótico (BROWNAWELL *et al.*, 2012). Tradicionalmente, os prebióticos estão presentes em verduras e frutas como cebola, banana, alho e alcachofra (KAUR & GUPTA, 2002; CARABIM & FLAMM, 1999) e sob a forma de oligossacarídeos no leite materno (FAN *et al.*, 2014; GARRIDO *et al.*, 2013).

Garrido *et al.* (2013) ao estudarem 22 isolados de *Bifidobacterium longum*, espécie mais representativa da microbiota infantil, observaram que todos os isolados na presença de oligossacarídeos apresentam crescimento e produção de AGCC (GARRIDO *et al.*, 2013). Outro trabalho demonstrou que, *in vitro*, oligossacarídeos do leite materno reduzem o pH do meio, além de aumentar a concentração das bifidobactérias e reduzir a concentração das cepas patogênicas de *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*, proporcionalmente (YU *et al.*, 2013). Quanto ao gênero *Lactobacillus*, Arena *et al.* (2014) observaram que prebióticos são capazes de promover o crescimento, *in vitro*.

Já em trabalhos com seres humanos foi verificado que uma alimentação rica em carboidratos não-digeríveis como prebióticos e oligossacarídeos não digeríveis estimula a microbiota intestinal (DE FILIPPO *et al.*, 2010; MARTINEZ *et al.*, 2010) e a bifidogênese (MARTÍNEZ *et al.*, 2010; SHEN *et al.*, 2011), fatores importantes no tratamento e prevenção da constipação intestinal(KASHYAP *et al.*, 2013;SHEN *et al.*, 2011). Enquanto que uma alimentação pobre em fibras e rica em açúcares simples, proteínas, amidos e lipídeos provoca efeitos deletérios na microbiota intestinal (SHEN *et al.*, 2012; KOENIG *et al.*, 2011; WALKER *et al.*, 2011; DE FILIPPO *et al.*, 2010).

De acordo com a literatura consultada, o aumento do consumo de açúcar refinado promove o crescimento de bactérias oportunistas como *Clostridium difficile* e *Clostridium perfringens* (BROWN *et al.*, 2012). E o excesso de consumo de ácidos graxos promove um aumento na quantidade de sais biliares excretados no intestino, alterando dessa forma a microbiota (ZOETENDAL & DE VOS, 2014) por promover um crescimento menor de *bifidobactérias*(MCALLAN *et al.*, 2014). Já o excesso no consumo de proteína animal estimula certas bactérias que, ao fermentarem as proteínas, despejam no meio produtos que desarmonizam a microbiota intestinal (ZOETENDAL& DE VOS, 2014; BRÜSSOW, 2013).

O alto consumo de leite de vaca por crianças, um alimento rico em proteína, é positivamente correlacionado com constipação intestinal durante a infância (KOCAA Y *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2003). Estudos realizados com crianças constipadas demonstram que constipação intestinal infantil e consumo de leite de vaca estão positivamente associados. Maffei e colaboradores (1994) relataram que mais de 35% das crianças constipadas tiveram o inicio da constipação associado à introdução de leite de vaca na dieta. Outros trabalhos relacionam a constipação intestinal na criança a um consumo diário de 200 ml de leite ou mais (KOOCAY *et al.*, 2011; ANDIRAN *et al.*, 2006).Em um desses trabalhos, em torno de 30% das crianças constipadas consumiam mais de 500 ml de leite por dia (KOCAA Y *et al.*, 2011).

Crowley *et al.* (2013) associaram o consumo de proteína do leite de vaca com a redução dos movimentos peristálticos em crianças e estudos que realizaram a suspensão do consumo de leite de vaca em crianças constipadas obtiveram efeitos positivos (DAHER *et al.*, 2001; IACONO *et al.*, 1998).

Contudo, os trabalhos que relacionam o consumo de fibras com constipação intestinal são controversos possivelmente pelos diferentes métodos e tabelas utilizados para o cálculo desse nutriente (VITOLO *et al.*, 1998). Aguirre *et al.* (2000) não observaram diferenças entre o consumo de fibras entre crianças constipadas e não constipadas utilizando como ferramenta, para avaliação da quantidade de fibra alimentar na dieta, a tabela da *Association of Official Analytical*

*Chemists* (AGUIRRE *et al.*, 2000). Já Ip *et al.* (2005) ao utilizarem como critério as recomendações da *American Academy Pediatrics* observaram que crianças constipadas possuem um consumo significativamente menor em fibras quando comparadas as não-constipadas (IP *et al.*, 2005).

#### 2.4 O uso de probióticos na CICF

Conceitualmente, a microbiota intestinal é composta por mais de 500 espécies diferentes de microorganismos (BECKER *et al.*, 2011; CAICEDO *et al.*, 2005; CORTHIER & DORÉ, 2010). Desses, somente um pequeno percentual, de 1 a 10%, pode ser analisado por meio de culturas (HARASZTHY *et al.*, 2007 apud FAN *et al.*, 2014). Existem ainda as técnicas que utilizam análises moleculares, as quais possuem algumas deficiências de acordo com a quantidade de microorganismos presentes, bem como em relação a certas cepas (PENDERS *et al.*, 2005). Assim, nesta revisão só identificamos dois estudos sobre a microbiota intestinal na CICF (KHALIF *et al.*, 2005; ZOPPI *et al.*, 1998), sendo somente um realizado com crianças (ZOPPI *et al.*, 1998) e ambos por intermédio de meios de cultura (KHALIF *et al.*, 2005; ZOPPI *et al.*, 1998). Devido à escassez de estudos observacionais e como as bactérias probióticas compõem a microbiota intestinal (SALMINEN *et al.*, 1998), estudos de intervenção com probióticos tem sido utilizados como modelo no estudo da ação da microbiota na CICF (Quadro 1).

**Quadro 1-** Estudos de intervenção com probióticos

Autor	Objetivos	Métodos	Cepas	Resultados/Conclusão
Guerra <i>et al.</i> , 2011	Efeitos do uso de um iogurte com <i>B. longum</i> na CICF.	Duplo-cego, cruzado e placebo controlado 59 alunos (5 a 15 anos) <i>Iogurte com B. longum</i> 10 <sup>9</sup> UFC ou iogurte sem probiótico Fezes: Multiplex PCR 5 semanas	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiótico melhorou a frequência intestinal e a consistência das fezes
Tabbers <i>et al.</i> , 2009	Efeitos de um leite fermentado contendo <i>B. lactis</i> na constipação	Duplo cego, randomizado multicêntrico e placebo controlado 160 crianças (3-16 anos) Comparação com leite não fermentado e sem probióticos.	<i>Bifidobacterium lactis</i> DN-173 010	A frequência intestinal aumentou de 1,6 episódios por semana para 4,5 por semana.
Horvath <i>et al.</i> , 2013	Efeitos do <i>B. lactis</i> na CICF.	Randomizado e placebo controlado 57 crianças( 2-10 anos) acompanhadas por 36 meses	<i>Bifidobacterium lactis</i>	Não houve diferença entre o grupo placebo.
Tabbers <i>et al.</i> , 2011	Efeitos do <i>B. breve</i> na constipação	20 crianças e adolescentes (3-16 anos) 10 <sup>8</sup> a 10 <sup>10</sup> UFC em sachê	<i>Bifidobacterium breve</i>	A frequência intestinal aumentou de 0,9 para 4,9 por semana. Episódios de incontinência fecal reduziram de 9,0 para 1,5 episódios por semana Dor abdominal reduziu de 4,2 para 1,9 episódios por semana.
Banaszkie wicz <i>et al.</i> , 2005	Efeitos do <i>Lactobacilos GG</i> na constipação	Duplo cego, randomizado e placebo controlado 84 crianças e adolescentes (2-16 anos) 1 ml/kg/dia de lactulose a 70% com 10 <sup>9</sup> UFC de <i>Lactobacillus GG</i> - 2 vezes ao dia por 12 semanas	<i>Lactobacillus GG</i>	Os grupos não diferiram quanto a frequência intestinal e/ou número de soiling por semana na quarta, oitava e décima segunda semana.
Cocorullo <i>et al.</i> , 2010	Efeitos do <i>L. reuteri</i> na CICF.	Duplo cego, randomizado e placebo controlado 44 crianças ( acima de 6 meses)	<i>Lactobacillus reuteri</i> (DSM 17938)	A frequência intestinal aumentou de 2,82 para 4,77 por semana.

Autor	Objetivos	Métodos	Cepas	Resultados/Conclusão
Bu <i>et al.</i> , 2007	Efeitos do <i>L. casei rhamnosus</i> na CICF	Duplo cego, placebo controlado e randomizado 45 crianças de até 10 anos <i>Lactobacillus casei</i> 8x10 <sup>8</sup> UFC- duas vezes ao dia por 04 semanas Comparação com óxido de magnésio Cultura de bactérias fecais	<i>Lactobacillus casei</i>	Dor abdominal ocorreu menos no grupo do probiótico. O percentual de <i>Lactobacillus</i> aumentou.
Bekkali <i>et al.</i> , 2007	Efeitos de um probióticos contendo <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> na CICF	20 crianças e adolescentes (4-16 anos) 4x 10 <sup>9</sup> UFC/dia- 4 semanas	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	A frequência intestinal aumentou de 2,0 para 3,8 episódios por semana. O número de episódios de incontinência fecal reduziu de 4,0 para 0,3 episódios por semana. A presença de dor abdominal descreceu.
Saneain <i>et al.</i> , 2013	Efeitos de um mix de probiótico com prebiótico (símbiotico) na CICF.	Placebo controlado 60 crianças e adolescentes (2 a 14 anos) Grupos: óleo mineral/ óleo mineral + símbiotico Símbiotico: <i>Lactobacillus Sporogenes</i> 5 x 10 <sup>7</sup> esporos + FOS	<i>Lactobacillus Sporogenes</i>	Aumento maior na frequência evacuações no grupo que ingeriu símbiotico. Esforço para evacuar, esvaziamento incompleto e <i>soiling</i> tiveram um maior decréscimo no grupo que ingeriu símbiotico
Khodadad & Sabbaghian, 2010	Efeitos de um mix de probióticos e prebióticos (símbiotico) na constipação.	Duplo cego, randomizado e placebo controlado 102 crianças (4-12 anos) Grupo A : 1,5 ml /kg/dia de placebo Grupo B : 1 sachê de símbiotico por dia (1x 10 <sup>9</sup> UFC) Grupo C: 1,5 ml /kg/dia de placebo + 1 sachê de símbiotico por dia	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. infantis</i> . FOS	Aumento da frequência de evacuações foi verificado em todos os grupos, contudo foi maior no grupo que recebeu símbiotico. Não houve diferença quanto a consistência das fezes e episódios de incontinência fecal entre os grupos
Nakamura <i>et al.</i> , 2001	Efeitos de iogurte com probióticos e prebióticos (símbioticos) na constipação.	Ratos Análise bacteriológica Controle/iogurte/iogurte com BYC (beta-glucana e alfa-manan, probióticos e prebióticos)	<i>Bifidobacterium</i> , eubactérias, bacteroides e Clostridium, <i>L. lactobacillus</i>	Aumento significativo do número de <i>Lactobacillus</i> e bactérias totais. Não houve variações significativa no número de bifidobactérias e bacteroides. Aumento no número e no peso seco das fezes.

Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization* (FAO/WHO) (2001), probióticos são “microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro”. Conceitualmente, são constituintes dos filos (BECKER *et al.*, 2011; CANDELA *et al.*, 2010; CORTHIER & DORÉ, 2010), *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, os gêneros mais estudados (ZOPPI *et al.*, 1998; SALMINEN *et al.*, 1998).

A hipótese de usar os probióticos para modular a microbiota intestinal vem de longa data. Eli Metchnikoff, em 1907, sugeriu que os probióticos poderiam modificar a microbiota intestinal substituindo as bactérias patogênicas (LILLY *et al.*, 1965 apud KOPP-HOOLIHAN, 2001). Atualmente, são descritas outras funções para os probióticos (CHEN *et al.*, 2010), inclusive no tratamento da constipação (ZOPPI *et al.*, 1998; SALMINEN *et al.*, 1998).

Os mecanismos de ação dos probióticos na CICF ainda não foram totalmente elucidados. Contudo, especula-se que os probióticos aumentam a motilidade intestinal e reduzem o tempo de trânsito intestinal por redução do pH (MUGGIE *et al.*, 2011; CHMIELEWSKA *et al.*, 2010; PICARD *et al.*, 2005; KHALIF *et al.*, 2005; ZOPPI *et al.*, 1998).

Alguns autores relatam os efeitos benéficos dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* exercem na motilidade intestinal (DUGHERA *et al.*, 2007; GUERRA *et al.*, 2011). Estudos em crianças constipadas demonstram que o uso desses probióticos de aumentam a frequência intestinal, de forma significativa, em até 4,9 vezes por semana (TABBERS *et al.*, 2011; KHODADAD & SABBAGHIAN, 2010; COCORULLO *et al.*, 2010; TABBERS *et al.*, 2009; BEKKALI *et al.*, 2007), contudo um estudo utilizando a cepa *Lactobacillus GG* não observou diferença estatística entre os grupos (BANASZKIEWICZ & SZAJEWSKA *et al.*, 2005).

Os estudos demonstram ainda a influência da probióticos em outros aspectos referentes à constipação crônica funcional. Probióticos melhoram a incontinência fecal em crianças constipadas, chegando a reduzir os episódios semanais para menos de 0,5 por semana (BEKKALI *et al.*, 2007), apesar do trabalho de Khodadad & Sabbaghian (2010) não haver encontrado diferenças entre os grupos (KHODADAD & SABBAGHIAN, 2010).

A utilização de probióticos de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* também seria capaz de reduzir o esforço para evacuar, além de reduzir a dor abdominal de forma significativa (BEKKALI *et al.*, 2007).

Por fim, é possível evidenciar que o uso de probióticos promove alterações qual-quantitativa na microbiota fecal, o que está atrelado a melhora do quadro de constipação (BU *et al.*, 2007; NAKAMURA *et al.*, 2001)

### 2.5 Considerações finais

A fisiopatologia da CICF apresenta-se de forma complexa e multifatorial. Dentre os fatores envolvidos no processo merecem destaque a microbiota intestinal, devido às alterações apresentadas em sua composição, e as fibras pelo seu papel na prevenção e tratamento da CICF.

A microbiota materna, tipo de parto e a alimentação da criança são capazes de modular a microbiota intestinal. Dentre esses, parece que a alimentação exerce um maior impacto pela possibilidade de modificação e de alteração benéficas exercidas, uma vez que as fibras melhoram a motilidade intestinal por estimular gêneros bacterianos com atividades fermentativas e sacarolíticas e inibir patógenos.

Nesse contexto, o conhecimento da composição da microbiota intestinal e da ingestão de fibra alimentar durante a CICF é fundamental para uma melhor compreensão do papel desses fatores na fisiopatologia da CICF.

### ***3 MÉTODOS***

---

## **3 Métodos**

---

---

### 3.1 Delineamento do estudo

Estudo observacional envolvendo 79 crianças que compuseram dois grupos: grupo caso - 39 crianças, de seis meses a três anos de idade incompletos, com CICF; grupo comparativo - 40 crianças sem CICF, na mesma faixa etária.

### 3.2 Local e período do estudo

O estudo foi realizado no Centro de Saúde Antônio Luís de Souza (CSALS), Camaragibe-PE, no período de março a dezembro de 2013, sede de uma das 248 equipes do Programa de Agentes de Saúde Comunitários (PACS) do município que possui uma população de 144.466 habitantes, sendo 7.871 na faixa etária de 0 a 4 anos de idade . O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é considerado médio (0,647). Em torno de 55% das crianças integram famílias com renda inferior a ½ salário mínimo. Tem apenas 34% dos domicílios com esgotamento sanitário adequado e cerca de 80% com abastecimento de água. Menos de 0,5% dos domicílios não possuem banheiro e/ou sanitários (IBGE, 2010).

### 3.3 Definição do grupo caso e do grupo comparativo:

#### Grupo caso

Crianças de seis meses a três anos incompletos com CICF, de acordo com o III Critério de Roma: a existência de ao menos dois dos seguintes parâmetros por pelo menos um mês – duas defecções ou menos por semana; ao menos um episódio de incontinência por semana; história de comportamento retentivo de fezes; ao menos um episódio de fezes endurecidas ou de movimentos intestinais dolorosos por semana; história de fezes de grande diâmetro que podem obstruir o vaso sanitário (HYMAN et al, 2006).

**Grupo comparativo**

Crianças de seis meses a três anos incompletos, saudáveis, em acompanhamento nos ambulatórios do CSALS, sem história de constipação prévia.

**3.4 Critérios de exclusão:**

Foram excluídos do estudo todos que apresentaram diagnóstico de síndromes genéticas, retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, encefalopatia crônica, doença celíaca, doença de Hirschsprung, ou ainda evidências de constipação secundária a anormalidades anatômicas (estenose anal) ou funcionais (pseudobstrução intestinal) e evidências de constipação secundária à alergia ao leite de vaca. Todos os pacientes estavam devidamente cadastrados no Sistema Único de Saúde.

3.5 Variáveis do estudo

<b>Tipos</b>	<b>Nome</b>	<b>Definição</b>	<b>Categorização</b>	<b>Resultados permitidos</b>
<b>Caracterização da amostra</b>	Sexo	Autoexplicativa	Qualitativa dicotômica	Feminino (1) Masculino (2)
	Estado nutricional	Estado nutricional da criança	Qualitativa policotômica	Magreza Eutrofia Sobre peso/Obesidade
	Condição socioeconômica	Classe da família	Qualitativa ordenada	A1,A2,B1,B2,C1,C2, D e E
	Idade da criança	Idade em meses	Quantitativa discreta	6 a 35
	Idade materna	Idade em anos	Quantitativa discreta	De acordo com resultados obtidos
<b>De análise</b>	Tipo de parto	Cesárea ou vaginal	Qualitativa dicotômica nominal	Vaginal(1) Cesárea (2)
	Prematuridade	Idade gestacional	Qualitativa dicotômica	Sim (1) Não (2)
	Aleitamento materno	Tempo em dias	Quantitativa discreta	$\geq 0$
	História familiar de constipação	Autoexplicativa	Qualitativa dicotômica	Sim (1) Não (2)
	Microbiota fecal da criança	Número de bactérias totais , <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i>	Quantitativa discreta	De acordo com resultados obtidos
	Grupo 1	Cereais, tubérculos e raízes em escores.	Quantitativa discreta	Em escores
	Grupo 2	Feijões e alimentos vegetais ricos em proteína em escores.	Quantitativa discreta	Em escores
	Grupo 3	Frutas, legumes e verduras em escores.	Quantitativa discreta	Em escores
	Grupo 4	Leite e derivados em escores.	Quantitativa discreta	Em escores
	Grupo 5	Enlatados, embutidos e conservas em escores.	Quantitativa discreta	Em escores
	Grupo 6	Guloseimas em escores.	Quantitativa discreta	Em escores

### **3.6 Operacionalização do estudo:**

#### ***3.6.1 Recrutamento:***

As mães das crianças do grupo caso e comparativo foram recrutadas principalmente por busca ativa na comunidade com o auxílio de Agentes Comunitários de Saúde. Também houve recrutamento nas salas de espera para atendimento ambulatorial ou durante as consultas do ambulatório de Nutrição e de Pediatria.

As mães foram elucidadas sobre o objetivo do estudo e, as que concordaram em participar, tiveram seus filhos incluídos na pesquisa. A inclusão foi firmada pela assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE-APÊNDICE A).

#### ***3.6.2 Identificação:***

Foram identificados por um código composto por um número de dois dígitos. Os números obedeceram à sequência de admissão no estudo e foi único para mãe e filho.

#### ***3.6.3 Coleta de dados:***

A pesquisadora aplicou um formulário embasado no questionário de sintomas gastrointestinais pediátricos do Critério de Roma III, com questões sobre o hábito intestinal da criança para definição da presença e ausência de CICF (ANEXO A).

Esse questionário foi desenvolvido pelo Comitê de Especialistas do Consenso de Roma III e foi submetido à fase inicial da tradução transcultural para utilização em Pernambuco. A referida tradução ainda não foi validada e/ou publicada.

Após a utilização do formulário Roma III foi aplicado um formulário estruturado (APÊNDICE B) com as variáveis relacionadas aos períodos pré-natal, perinatal e pós-natal imediato, amamentação, história familiar de constipação ; e um questionário de frequência de consumo alimentar (ANEXO B) composto de 96 alimentos.

Por fim, foi aplicado o Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB- ANEXO C) para estimativa do poder econômico (A1 a E) dos participantes do estudo.

#### ***3.6.4 Coleta de fezes***

As mães foram instruídas pela pesquisadora a realizarem a coleta do material fecal da criança. As mães receberam touca, máscara e luvas descartáveis. Foram orientadas a retirarem, ou outro membro da família, a fralda das crianças utilizando os Equipamentos de

Proteção Individual (EPI's) descartáveis fornecidos e acondiciona-las na geladeira, embaladas em saco descartável próprio para esse fim.

As fezes das crianças foram coletadas e transferidas para o pote estéril de polipropileno, com tampa de rosca, com o auxílio da pá acoplada ao pote, pela pesquisadora. Os potes foram fechados, identificados com etiqueta e acondicionados em caixa térmica para o transporte.

As coletas das fezes foram realizadas em qualquer evacuação do dia, contanto que a mesma fosse espontânea.

### *3.6.5 Transporte e Armazenagem das amostras:*

As amostras foram transportadas para o *freezer* do Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas (HC-UFPE), onde foram congeladas, e de lá para o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), setor de Biologia Molecular, onde ocorreram as análises.

O transporte ocorreu com as amostras acondicionadas em caixas térmicas juntamente com baterias de gelo. A quantidade e a disposição das baterias de gelo obedeceram as orientações do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001). As amostras permaneceram congeladas a uma temperatura média de -18°C até o momento da análise (MELO et al, 2010). O tempo entre a coleta, transporte e armazenagem foram em consonância às recomendações do fabricante do teste (MELO et al, 2010).

### *3.7 Avaliação antropométrica:*

A tomada da medida do comprimento das crianças menores de dois anos aconteceu utilizando-se estadiômetro de madeira portátil, com a criança deitada e descalça. O peso foi aferido com auxílio de uma balança eletrônica pediátrica, marca Filizola®, com a criança descalça e despida, ou seja, vestida somente com as roupas íntimas (cueca ou calcinha) ou fralda limpa. Para as crianças maiores de dois anos, a medida da altura aconteceu utilizando-se estadiômetro vertical de alumínio, com a criança em pé e descalça. Já o peso foi aferido com auxílio de uma balança mecânica de plataforma, marca Filizola®, com a criança descalça e despida, vestindo somente as roupas íntimas ou fralda limpa. A mensuração do peso e do comprimento/estatura das crianças teve como base as orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde, contidas nas normas técnicas do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional/SISVAN (BRASIL, 2011).

### 3.8 Avaliação Nutricional:

A avaliação nutricional foi realizada com base na idade, peso (em quilogramas), comprimento (menores de dois anos) ou altura (maiores de dois anos), sendo os dois últimos em centímetros. A classificação do estado nutricional das crianças foi realizada de acordo com os critérios do Ministério da Saúde, utilizando-se o índice antropométrico IMC/idade, segundo o escore  $z$  e as referências da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2006) para crianças de 0 a 5 anos de idade. Foram adotados os pontos de corte da Vigilância Nutricional no Brasil, baseados em recomendações adotadas internacionalmente e determinados pelo Ministério da Saúde. Os pontos de corte estão descritos a seguir (Quadro 2).

**Quadro 2 – Pontos de corte de IMC-para-idade para crianças menores de 5 anos.**

Valores Críticos	Diagnóstico Nutricional
< escore $z$ -3	Magreza acentuada
$\geq$ escore $z$ -3 e < escore $z$ -2	Magreza
$\geq$ escore $z$ -2 e $\leq$ escore $z$ +1	Eutrofia
>escore $z$ + 1 e $\leq$ escore $z$ +2	Risco de sobrepeso
>escore $z$ + 2 e $\leq$ escore $z$ +3	Sobrepeso
>escore $z$ + 3	Obesidade

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2011.

Para o cálculo do IMC/idade foi utilizado o software livre *WHO Anthro Plus*, da OMS.

### 3.9 Avaliação do consumo alimentar:

O QFA utilizado com os participantes (ANEXO B) pode ser classificado como qualitativo, uma vez que não oferece a possibilidade de verificar as porções ou quantidade dos alimentos citados como consumidos pelos entrevistados. A lista de alimentos que o compõe possui noventa e seis itens e está dividida em grupos de alimentos, a saber: cereais e tubérculos; feijões e alimentos vegetais ricos em proteína; leite e derivados, carnes e ovos; enlatados, embutidos e conservas; frutas, legumes e verduras; e guloseimas. Dispõe de quarenta e uma possíveis categorias de respostas sobre a frequência de consumo de cada alimento presente na lista do QFA: nunca, de uma a dez vezes ao dia (diário), de uma a dez vezes por semana (semanal), de uma a dez vezes por mês (mensal) e de uma a dez vezes ao ano (anual).

O referido QFA foi construído através de uma livre adaptação do modelo proposto por Fisberg et al ( 2005).

A avaliação do QFA foi realizada com base na metodologia proposta por Fornés et al (2002), com adaptações, na qual o cômputo geral da frequência de consumo é convertido em escores. Foram constituídos seis grupos de alimentos: o grupo I foi composto de cereais, tubérculos e raízes; grupo II foi composto de feijões e alimentos vegetais ricos em proteína; grupo III foi composto de frutas, legumes e verduras; grupo IV foi composto de leite e derivados; grupo V foi composto de leite e derivados; e o grupo VI foi composto por guloseimas que, segundo o Ministério da Saúde, são definidas como alimentos não nutritivos a saber: café, sucos artificiais, balas, refrigerantes, salgadinhos, açúcar, dentre outros (BRASIL, 2013).

As diferentes categorias de respostas (nunca, diário, semanal, mensal e anual) foram transformadas em frequência de consumo mensal. Foi estipulado ainda um valor de peso máximo- S=1- para os alimentos com consumo diário e de S=0 para aqueles sem consumo. Já os demais pesos das categorias de frequência foram obtidos de acordo com a seguinte equação:  $S=(1/30) \times n$ , sendo n o número de dias que a criança avaliada consumiu determinado alimento (PINHO et al, 2012; FORNÉS et al, 2002). Dessa forma, se a criança consumiu um determinado alimento uma vez por semana, a frequência foi  $S= 0,13$  ( $S= (1/30) \times 4$ - onde quatro foi o número de dias que a criança consumiu o determinado alimento, já que foi considerado o mês com quatro semanas), por exemplo.

### 3.10 Avaliação socioeconômica

Para a avaliação socioeconômica foi utilizado o CCEB (ANEXO C, da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – ABEP. Este critério é dividido em duas seções distintas: posse de itens e grau de instrução do chefe da família.

A primeira seção quantifica a posse dos seguintes itens pelo sujeito: televisão em cores, rádio, banheiro, automóvel, empregada mensalista, máquina de lavar, videocassete e/ou DVD, geladeira e freezer.

Já a segunda seção possibilita qualificar o grau de instrução do chefe da família em: analfabeto/até 3<sup>a</sup> série fundamental, 4<sup>a</sup> série fundamental, fundamental completo, médio completo ou superior completo.

A pontuação obtida nas duas seções permitiu situar os participantes em uma das oito classes possíveis, de acordo com os seguintes pontos de corte : A1 ( 42 a 46 pontos), A2 (35 a 41 pontos), B1 (29 a 34 pontos), B2 ( 23 a 28 pontos), C1 ( 18 a 22 pontos), C2 (14 a17 pontos), D ( 08 a 13 pontos) e E (0 a 7 pontos).

### 3.11. Análises laboratoriais da microbiota fecal

As análises laboratoriais da microbiota fecal foram realizadas em parceria com o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami( LIKA/UFPE).

#### *3.11.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real*

As amostras de fezes foram submetidas à análise da microbiota fecal por PCR em tempo real (PCR real time) utilizando o fluoróforo SYBR® Green. Nesse método, a enzima DNA polimerase, provinda da *Thermus Acquaticus* (*Taq*), é capaz de sintetizar uma sequência complementar de DNA a partir do ponto iniciador, o *primer*, o qual está ligado à cadeia de DNA genômico. Assim, o fluoróforo SYBR® Green se liga a cada nova cópia de DNA de cadeia dupla. O resultado é um aumento na fluorescência proporcional à quantidade de produtos de PCR produzidos.

#### *3.11.2 Etapas da análise por PCR em tempo real (SYBR® Green):*

##### Extração do DNA:

A extração do DNA das amostras fecais foi realizada empregando-se o kit comercial QIAamp DNA Stool™, da empresa QIAGEN, conforme orientação do fabricante.

Uma das amostras de fezes do grupo comparativo não conseguiu ter o seu DNA extraído por problemas técnicos nessa etapa.

##### PCR em tempo real:

As reações de amplificação foram preparadas com reagentes padronizados para PCR em tempo real (Universal PCR Master Mix) adicionados do conjunto de primers específico.

##### Desenho dos “primers”:

Os *primers* foram adquiridos com auxílio dos estudos sobre análise da microbiota fecal com PCR em tempo real (SYBR® Green).

Foram adquiridos os seguintes *primers* específicos para os gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e bactérias totais.

**Quadro 3- Primers de grupos na PCR em tempo real**

Grupo ou espécie	Sequência de oligonucleotídeo (5' - 3')	Verificado em	Referência
Eubacteria (bactéria total)	UniF340: ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT	11 cepas de Eubacteria	Amann R, 1990 and Croswell A., 2009
	UniR514: ATTACCGCGGCTGCTGGC		
<i>Lactobacillus ssp</i>	gLactoF: TGGAAACAGRTGCTAATACCG	21 cepas de <i>Lactobacillus</i>	Byun et al, 2004
	gLactoR: GTCCATTGTGGAAGATTCCC		
	LacAcR: GCGGAAACCTCCCCAACCA		
<i>Bifidobacterium ssp</i>	gBifidF: CTCCTGGAAACGGGTGG	11 cepas de <i>Bifidobacterium</i>	Matsuki T, 2004
	gBifidR: GGTGTTCTTCCCGATATCTACA		
	BiLonR_2: TACCCGTCGAAGCCAC		

3.12 Plano de análise

Banco de dados

A digitação dos dados foi realizada pela pesquisadora e o armazenamento foi realizado no banco de dados do pacote estatístico EPIINFO 6.04d.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Package for Social Science – SPSS para Windows, versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) . As variáveis numéricas foram representadas pelas medidas de tendência central e medidas de dispersão. Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas foram utilizados o teste Qui-Quadrado e o teste Exato de Fisher. As variáveis quantitativas foram testadas quanto à normalidade de distribuição segundo o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis com distribuição normal foram descritas na forma de médias e dos respectivos desvios padrões (DP) e as variáveis que apresentaram distribuição não normal foram descritas na forma de medianas e intervalos interquartílicos (IQ). Para a comparação entre os dois grupos, principalmente para a análise da microbiota, foi utilizado o teste t Student na distribuição normal e de Mann-Whitney na distribuição não normal. A análise estatística dos dados referentes a microbiota foi realizada no programa Graphpad Prism e foram utilizados os mesmos critérios supracitados. Os escores de frequência de consumo alimentar, por se tratar de uma mensuração em escala ordinal, foram descritos sob a forma de mediana e intervalo interquartílico Considerou-se nível de confiança  $p \leq 0,05$ .

### 3.13. Aspectos éticos

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, sob o número 165.098, no dia cinco de dezembro de 2012 e cumpriu todas as normas da resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde (ANEXO D).

As mães foram esclarecidas verbalmente sobre os objetivos, operacionalização e aspectos éticos da pesquisa. Em seguida, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido para cada criança da pesquisa (APÊNDICE A).

### 3.14. Limitações metodológicas

Como na maioria das pesquisas, foram observadas algumas limitações no seu decorrer. A escassez de estudos sobre a microbiota fecal na CICF dificultou a escolha de protocolos e métodos no presente trabalho. Assim, a escolha dos gêneros estudados foi embasada em artigos que descreviam a microbiota fecal das crianças saudáveis e em pesquisas que analisaram os efeitos dos probióticos no tratamento da CICF.

De acordo com a literatura existente, a microbiota intestinal contém mais de 1000 espécies diferentes de microorganismo. Portanto, quanto maior o número de espécies contempladas na análise, mais fidedigno seria o resultado. No entanto, no presente estudo, somente foi verificado o gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. A escolha foi embasada no fato de que ambos são abundantes na microbiota de crianças saudáveis e, quando alteradas, representam um dos marcadores para disbiose em crianças.

Como não há consenso na literatura quanto a escolha da melhor técnica de análise da microbiota fecal, pois cada uma apresenta uma limitação específica, a equipe responsável por essa parte da pesquisa escolheu a técnica de SYBR® Green por ser capaz de amplificar qualquer sequência de DNA em cadeia dupla e não necessitar de sonda, o que facilita a configuração do ensaio e reduz os custos.

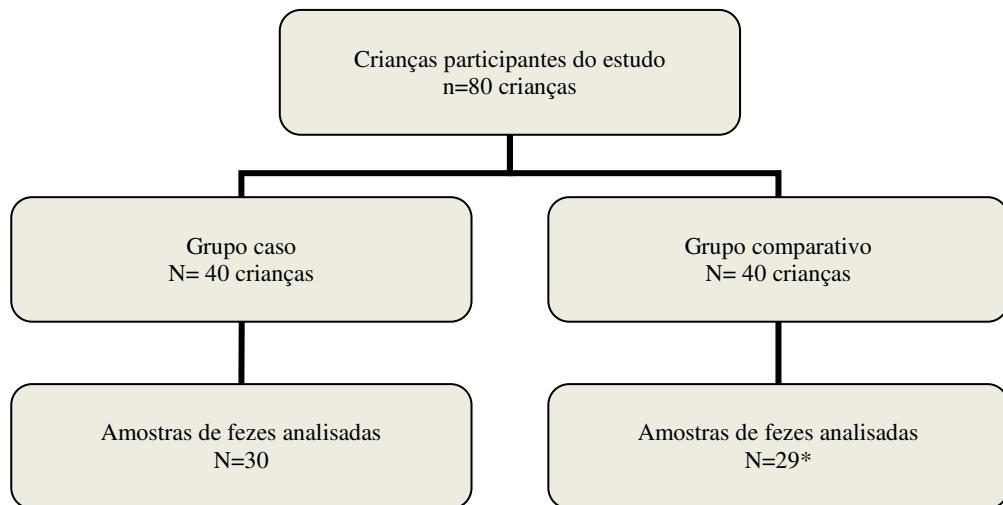
Não foi encontrado na literatura um protocolo para transporte das fezes coletadas, pois a grande maioria dos trabalhos utilizou amostras de fezes frescas que foram coletadas e analisadas no próprio hospital onde ocorreu a pesquisa. Assim, para transportar as amostras de fezes de Camaragibe até o HC-UFPE utilizou-se o protocolo para transporte de imunobiológicos pela Rede de Frio do Ministério da Saúde.

Outro limitador, principalmente no que se refere a análise molecular, foi o custo já que a pesquisa ocorreu com recursos próprios.

O número de amostras do presente trabalho é menor do que o inicialmente programado. Vários fatores contribuíram para o número de amostras analisadas: houve um

*black-out* no HC-UFPE durante o mês de julho de 2013 que provocou perda de todas as amostras coletadas; após esse evento, algumas famílias mudaram de cidade e outras se recusaram a fornecer uma segunda amostra. No mais, a maioria dos domicílios visitados na pesquisa constitui de difícil acesso e localização, fazendo com que as visitas fossem agendadas de acordo com a disponibilidade de Agentes Comunitários de Saúde da região, os quais possuíam também outras atribuições.

Dessa forma, do grupo caso foram analisadas trinta amostras de fezes (30/39) e do grupo comparativo, vinte e nove a análise das amostras (29/40) conforme a Figura 2. Contudo a análise estatística dos grupos com e sem as perdas não demonstrou diferença.

**Figura 2-** Fluxograma de análise das amostras coletadas

\* Uma das crianças do grupo comparativo não teve a amostra de fezes analisada por problemas técnicos na fase de extração de DNA.

O consumo de fibras das crianças seria mais fidedigno se fossem associados dois métodos de inquéritos alimentares para esse quesito. No entanto, para dar agilidade ao estudo devido aos problemas já citados, optou-se por utilizar somente o QFA, o qual é capaz de investigar possíveis relações entre alimentos e/ou nutrientes com doenças crônicas não-transmissíveis, e de classificar os indivíduos segundo os seus padrões alimentares habituais. Ainda é considerado como o mais prático e informativo método de avaliação da ingestão dietética. Contudo, como qualquer outro método de inquérito alimentar, o QFA contém limitações como lista fixa de alimentos, viés de memória e interpretação da pergunta pelo entrevistado (FURLAN-VIEBIG & PASTOR-VALERO, 2004; SLATER, 2003)

O QFA utilizado no presente estudo dispõe de 41 possíveis categorias de resposta, o que dificultaria a análise dos dados. Dessa forma, para unificar os resultados, foi utilizada a metodologia proposta por Fórnes, na qual a frequência de consumo é convertida em escores.

## ***4 RESULTADOS***

---

## 4 Resultados

---



---

Foram analisadas 79 crianças, sendo 45,6% (36/79) do sexo feminino e 54,4% (43/79) do sexo masculino, com idade entre seis e trinta e cinco meses, residentes no município de Camaragibe (PE). Não houve diferença estatística quanto ao sexo, estado nutricional, critério de classificação econômica, idade e idade materna nas crianças estudadas.(Tabela 1).

**Tabela 1-** Sexo, estado nutricional, idade, idade materna e avaliação socioeconômica de acordo com os grupos estudados.

Variáveis	Crianças Constipadas (N=39) n (%)	Crianças não constipadas (N=40) n (%)	Total n(%)	p
<b>Sexo</b>				0,305
Feminino	15 (38,5)	21 (52,5)	36 (45,6)	
Masculino	24 (61,5)	19 (47,5)	43 (54,4)	
<b>Estado Nutricional</b>				0,739†
Magreza	1 (2,6)	1 (2,6)	2 (2,5)	
Eutrofia	30 (76,9)	27 (69,2)	57 (72,2)	
Sobrepeso/Obesidade	8 (20,5)	11 (28,2)	19 (25,3)	
<b>Classificação ABEP</b>				0,604†
B	4 (10,3)	7 (17,5)	11 (13,9)	
C1	19 (48,7)	21 (52,5)	40 (50,6)	
C2	9 (23,1)	7 (17,5)	16 (20,3)	
D/E	7 (17,9)	5 (12,5)	11 (15,2)	
<b>Idade (meses)◊</b>	16,7±8,3	15,6±6,7		0,532
<b>Idade materna (anos)◊</b>	26,4±6,7	27,3±6,5		0,570

▪ Teste do Qui-quadrado de Pearson

†Teste Exato de Fisher

◊ Teste t de Student

Foi observada uma maior frequência de parto do tipo cesariana (27/39; 69,2%) no grupo das crianças constipadas, apesar de não haver diferença estatisticamente significante entre os grupos ( $p= 0,084$ ). As crianças constipadas tiveram um menor tempo de aleitamento materno quando comparadas às crianças não constipadas ( $p=0,006$ ). História familiar positiva para constipação foi mais freqüente no grupo das crianças constipadas. ( $p=0,016$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2-** Tipo de parto, prematuridade, tempo de aleitamento e história familiar de constipação das crianças nos dois grupos estudados.

Variáveis	Crianças Constipadas (N=39) n (%)	Crianças Não constipadas (N=40) n (%)	Total n(%)	p
<b>Tipo de parto</b>				0,084*
Vaginal	12(30,8)	21(52,5)	33(41,8)	
Cesariana	27(69,2)	19 (47,5)	46(58,2)	
<b>Prematuridade</b>				1,00†
Sim	3 (7,7)	3(7,5)	6(7,6)	
Não	36(92,3)	37(92,5)	73(92,4)	
<b>Tempo aleitamento (dias)*</b>	120 (60; 240)	270 (180; 360)		0,006*
<b>História familiar de constipação</b>				0,016*
Sim	28(71,8)	17 (42,5)	45(57)	
Não	11(28,2)	23(57,5)	34(43)	

\* Teste do Qui-quadrado de Pearson

\*Mediana e percentis (25 e 75), teste Mann-Whitney

†Teste Exato de Fisher

Não houve diferença estatisticamente significante entre o consumo de frutas, legumes e verduras entre os grupos (  $p= 0,563$ ). No entanto, as crianças constipadas tiveram uma frequência de consumo significativamente maior de leites e derivados em comparação às crianças não constipadas ( $p< 0,001$ ). O consumo de guloseimas foi maior no grupo das crianças constipadas ( $0,15 \pm 0,11$ ) quando comparado ao grupo das crianças não constipadas ( $0,11 \pm 0,09$ ). (Tabela 3).

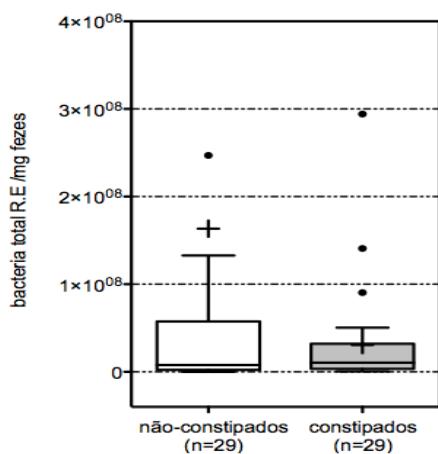
**Tabela 3-** Mediana e intervalos interquartílicos de escores de frequência de consumo alimentar de acordo com os dois grupos estudados.

Variáveis	Crianças constipadas (N=39) n (%)	Crianças não constipadas (N=40) n (%)	p
<b>Grupo 1(cereais, tubérculos e raízes)*</b>	0,24 (0,17;0,30)	0,22 (0,15; 0,28)	0,220
<b>Grupo 2 (feijões e alimentos vegetais ricos em proteína)*</b>	0,20 (0,08; 0,20)	0,20 (0,08; 0,20)	0,858
<b>Grupo 3 (frutas, legumes e verduras)*</b>	0,21 (0,12; 0,31)	0,20 (0,12; 0,28)	0,563
<b>Grupo 4 (leites e derivados)</b>	0,45±0,18	0,27±0,17	< 0,001
<b>Grupo 5 (enlatados, embutidos e conservas)*</b>	0,00 (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 0,01)	-
<b>Grupo 6 (guloseimas)</b>	0,15±0,11	0,11±0,09	0,093

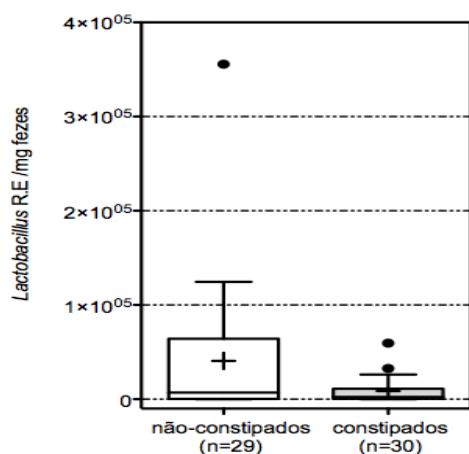
\*Mediana e percentis (25 e 75), teste Mann-Whitney

Acerca da microbiota fecal dos grupos estudados, não houve diferença significativamente estatística ( $p=0,325$ ) quanto ao total de bactérias por miligrama de fezes (Gráfico 1). As crianças constipadas apresentaram uma quantidade significativamente menor do gênero *Lactobacillus* por miligrama de fezes (7002; 364,5-64145) quando comparadas as crianças não constipadas (2412; 516-11155) ( $p=0,015$ ). Quanto ao gênero *Bifidobacterium*, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos estudados ( $p=0,323$ ) (Gráfico 3).

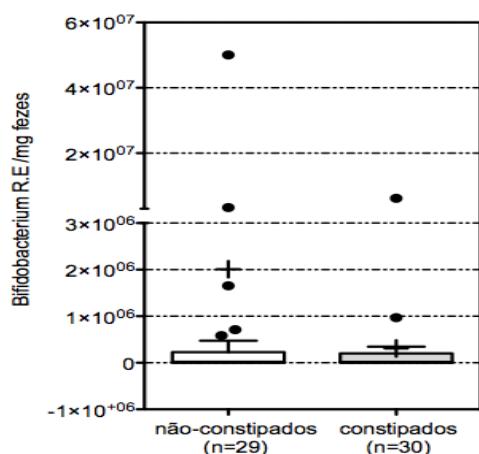
**Gráfico 1-** Total de bactérias por mg de fezes de acordo com os dois grupos estudados



**Gráfico 2-** Gênero *Lactobacillus* por miligramas de fezes de acordo com os dois grupos estudados



**Gráfico 3-** Gênero *Bifidobacterium* por miligramas de fezes de acordo com os dois grupos estudados



---

## *5 DISCUSSÃO*

## 5 Discussão

---

---

As crianças constipadas apresentaram um menor número de *Lactobacillus* por miligrama de fezes e não diferiram quanto ao número de *Bifidobacterium* em relação às crianças não constipadas. Os casos apresentaram uma frequência maior de consumo de produtos lácteos e de guloseimas. Observamos que crianças constipadas tiveram menor tempo de aleitamento materno e maior frequência de parto cesáreo, além de maior frequência de história familiar de constipação em comparação às crianças não constipadas.

Vários fatores estão associados à CICF em crianças sendo reconhecido o caráter multifatorial dessa entidade (KOCAA Y *et al.*, 2010; VAISHAMPAYAN *et al.*, 2010; PENDERS *et al.*, 2006; PALMER *et al.*, 2007). É sugerido que a microbiota intestinal da criança com CICF apresenta-se de forma alterada (ZOPPI *et al.*, 1998), sendo a alimentação infantil, conceitualmente, o fator com a maior capacidade de modular essa alteração (DE FILIPPO *et al.*, 2010; POKUSAEVA *et al.*, 2010; WALKER *et al.*, 2005;)

O gênero *Lactobacillus*, prevalente na microbiota intestinal infantil, tem sua presença reduzida quando ocorre alto consumo de alimentos ricos em açúcar refinado e ácidos graxos, bem como de guloseimas, devido a promoção no crescimento de outros gêneros bacterianos (BROWN *et al.*, 2012; MACKIE *et al.*, 1999). Já o alto consumo de produtos lácteos tem sido associado à CICF por mecanismos ainda não totalmente elucidados, porém acredita-se que possa desequilibrar a microbiota intestinal (GOMES *et al.*, 2003; ZOETENDAL & DE VOS, 2014; CROWLEY *et al.*, 2013; BRÜSSOW, 2013).

Em nosso estudo foi possível observar que as crianças constipadas também apresentaram menor tempo de aleitamento materno e maior frequência de parto cesáreo, os quais estão associados a alterações na implantação e perfil da microbiota intestinal (menor número de bactérias do gênero *Lactobacillus*), além de maior frequência de história familiar para a constipação em comparação às crianças não constipadas, o que pode sugerir compartilhamento da microbiota intestinal devido ao ambiente familiar em comum (VAISHAMPAYAN *et al.*, 2010).

O consumo de hortifrúrtis aumenta o número de *Bifidobacterium* na microbiota fecal (IWATA *et al.*, 2009) e crianças que consomem menos legumes, verduras e frutas apresentam são mais constipadas do que aquelas que apresentam um consumo adequado de hortifrúrtis (VIVES *et al.*, 2005). Contudo, não houve diferença estatística entre o número de *Bifidobacterium* e do consumo de fibras, traduzido pela frequência de consumo de frutas, legumes e vegetais nos dois grupos estudados. E este resultado foi semelhante a outros estudos observacionais realizados sobre a microbiota fecal e o consumo de crianças com CICF (ZOPPI *et al.*, 1998; AGUIRRE *et al.*, 2002). Outros autores apontam para o papel de probióticos (gênero *Bifidobacterium*) (GUERRA *et al.*, 2011; TABBERS *et al.*, 2009) e das fibras na motilidade intestinal (BROWN *et al.*, 2012; HOLMA *et al.*, 2010), e especulam a importância dessa interação para a manutenção da função motora colônica.

Os nossos resultados corroboram os achados de Zoppi *et al.* (1998) que ao avaliar a microbiota fecal de crianças, por meio de cultura, também observaram que as crianças constipadas apresentavam um menor número de *Lactobacillus* e que não diferiram quanto ao número de *Bifidobacterium* quando comparadas com crianças não constipadas, o que foi caracterizado pelos autores como disbiose (ZOPPI *et al.*, 1998). Ainda não há dados suficientes que permitam concluir se as alterações observadas possam ser interpretadas como fator causal ou se resultam da CICF. Outro estudo observacional sobre microbiota fecal atribui o número baixo de *Lactobacillus* em seus participantes à uma alimentação ocidentalizada, rica em açúcares simples e ácidos graxos (FINEGOLD *et al.*, 1977).

Conceitualmente, as fibras promovem um aumento da motilidade intestinal (JEFFERY & O' TOOLE, 2013) através da microbiota intestinal (DE FILIPPO *et al.*, 2010; WALKER *et al.*, 2005), além de ser um nutriente associado ao tratamento e prevenção da constipação (GOMES *et al.*, 2003). Aguirre *et al.* (2002) ao avaliar o consumo de fibras em lactentes constipados não encontraram diferenças entre os grupos, no entanto pontuaram que a ingestão de fibras no grupo de crianças constipadas deveria ser maior (AGUIRRE *et al.*, 2002). `

No entanto, outros autores relataram um menor consumo de fibras por crianças constipadas, como os estudos de Vives *et al.* (2005) e Ip *et al.* (2005), que mostraram que as crianças constipadas consomem menos frutas e verduras quando comparadas as crianças sem constipação (VIVES *et al.*, 2005; IP *et al.*, 2005). Os autores utilizaram para cálculo das fibras uma metodologia diferente da empregada no presente estudo, o qual não quantificou a quantidade ingerida e sim estimou a frequência de consumo.

Não observamos associação entre constipação e uma menor frequência de consumo de alimentos fonte de fibras, uma vez que ambos os grupos não diferiram quanto frequência de consumo de frutas, legumes e verduras. Alguns fatores podem ter contribuído para que não houvesse diferença entre os grupos como viés de memória do entrevistado, lista fixa de alimentos do QFA ou ainda o método empregado para avaliação, já que existem diversos métodos e tabelas para o cálculo de fibras. Pode ainda ser reflexo do processo atual de transição nutricional, onde se verifica, dentre outros aspectos a redução do consumo de alimentos fontes de fibras por toda a população (IBGE,2004).

Um ponto a se considerar seria a alta frequência de consumo de produtos lácteos e de guloseimas pelas crianças constipadas em substituição ao consumo de outros grupos de alimentos com maior teor de fibras, como as frutas, legumes e verduras, por exemplo. O alto consumo de produtos lácteos também pode ser justificado pelo hábito de supervalorizar a ingestão desse grupo de alimentos na faixa etária estudada. Guloseimas e produtos lácteos possuem ainda uma facilidade de preparo quando comparados a outros itens de uma refeição.

O estudo de Crowley *et al.* (2013), realizado com crianças de três a 12 anos de idade, mostrou que a proteína do leite de vaca estava positivamente associada com a constipação intestinal, devido a mecanismos não totalmente elucidados. Já no trabalho de Kocaay *et al.* (2010) foi verificada uma associação positiva entre constipação intestinal e consumo de leite de vaca a partir de 250 ml por dia que os autores acreditam ser causada pelo processo de saponificação existente entre os ácidos graxos e cálcio presentes, contudo alguns estudos justificam que o consumo excessivo de proteína alteraria a microbiota intestinal (ZOETENDAL& DE VOS, 2014; BRÜSSOW, 2013).

Em consonância com os nossos resultados, estudos apontam que crianças constipadas apresentam um menor tempo de aleitamento materno quando comparadas as crianças não constipadas (KOCAAAY *et al.*, 2010; AGUIRRE *et al.*, 2002) e que alterações na microbiota infantil estão associadas a uma maior frequência de parto do tipo cesáreo (MITSOU *et al.*, 2011), já que o número de *Lactobacillus* presente na microbiota intestinal é influenciado por esses dois fatores. Assim, o leite materno contém prebióticos que estimulam os *Lactobacillus* da microbiota intestinal da criança (FAN *et al.*, 2014; GARRIDO *et al.*, 2013), além de conter esse gênero bacteriano em sua composição (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; BERZITZOGLOU & STAVROPOULOU, 2011; LARA-VILOSLADA *et al.*, 2007) . Já as crianças nascidas de parto cesáreo, recebem prioritariamente a contribuição da microbiota do ambiente, sendo caracterizadas por um número menor de *Lactobacillus* em sua microbiota intestinal (MITSOU *et al.*, 2011). Anteriormente , Mitsou *et al.* (2008) demonstraram que crianças nascidas de

parto cesáreo são menos colonizadas por *Lactobacillus* quando comparadas àquelas nascidas de parto vaginal (MITSOU *et al.*, 2008).

Gomes *et al.* (2003) também encontraram um tempo menor de aleitamento materno nas crianças constipadas quando comparadas ao seu controle. Em um estudo realizado no município de Embu, as crianças em aleitamento artificial apresentaram chance 2,1 vezes maior para a presença de constipação quando comparadas com lactentes que recebiam aleitamento materno, misto ou predominante (AGUIRRE *et al.*, 2002).

No presente trabalho, mais de 70% das crianças com constipação intestinal apresentavam história familiar de constipação. Estudos apontam que esse fator pode ser justificado pelo compartilhamento da microbiota intestinal e de hábitos alimentares entre os familiares (MELLO *et al.*, 2010). Essa frequência é elevada e superior àquela encontradas em outros estudos europeus, nos quais a variação foi de 13% a 54%, aproximadamente (SOYLU, 2013; KOCAA Y *et al.*, 2010; AYDOGDU *et al.*, 2009; IP *et al.*, 2005; BOROWITZ *et al.*, 2003).

Contudo, foi bem próxima a de um estudo brasileiro, no qual os autores atribuíram a alta frequência de história familiar de constipação (81,6%) aos hábitos alimentares em comum dos familiares (MELLO *et al.*, 2010). Pode-se especular que essa diferença entre os estudos se deve ao método empregado, já que foi utilizado ROMA III para identificação de familiares com constipação, enquanto que os outros trabalhos utilizaram um questionário ou avaliação retrospectiva de prontuários.

No mais, a comparação dos resultados com outros citados na literatura é limitada, uma vez que somente identificamos dois estudos observacionais sobre microbiota fecal e CICF (KHALIF *et al.*, 2005; ZOPPI *et al.*, 1998). Desses, somente um foi realizado com crianças (ZOPPI *et al.*, 1998) e ambos utilizaram técnicas de culturas para a análise da microbiota enquanto que a nossa análise foi realizada por uma técnica molecular. Como as bactérias probióticas do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, compõem a microbiota intestinal (SALMINEN *et al.*, 1998) estudos de intervenção tem sido utilizados como modelo no estudo da microbiota na CICF (TABBERS *et al.*, 2011; GUERRA *et al.*, 2011 COCCORULLO *et al.*, 2010; TABBERS *et al.*, 2009; BEKKALI *et al.*, 2007). Uma vez que os mesmos têm demonstrado que a administração desses probióticos, por via oral, tem melhorado a motilidade intestinal em crianças constipadas, fato também comprovado com estudos experimentais, *in vitro*, os quais relacionam a microbiota intestinal com fatores promotores de motilidade (GARRIDO *et al.*, 2013; YU *et al.*, 2013).

Deve-se considerar ainda que, conceitualmente, a fisiopatologia da CICF é complexa e multicausal (KOCAA Y *et al.*, 2010; VAISHAMPAYAN *et al.*, 2010; PALMER *et al.*, 2007), sendo somente abordados no presente estudo alguns fatores, dos quais se destacam a microbiota intestinal e a alimentação.

Acerca da microbiota intestinal, conceituada como um ecossistema complexo e composto por mais de 1000 espécies (BECKER *et al.*, 2011; CAICEDO *et al.*, 2005; CORTHIER & DORÉ, 2010) , optou-se por sua análise tendo como modelo os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* por constituírem os mais prevalentes na microbiota intestinal de crianças saudáveis(MIKANI *et al.*, 2009), além do que em estudos de intervenção apresentam efeito benéfico na motilidade intestinal (HUSEBYE *et al.*, 2001). Mas reconhece-se que é uma visão reducionista e por ser um estudo de corte transversal não permite se inferir se as alterações observadas na microbiota fecal são causa ou consequência da CICF.

Quanto à análise da alimentação, existem vários tipos de inquéritos alimentares que podem ser utilizados como ferramenta, contudo escolheu-se o QFA por ser capaz de investigar possíveis relações entre alimentos e/ou nutrientes com doenças crônicas não-transmissíveis, e de classificar os indivíduos segundo os seus padrões alimentares habituais (FURLAN-VIEBIG & PASTOR-VALERO, 2004; SLATER *et al.*, 2003). No entanto, como qualquer inquérito alimentar do tipo retrospectivo, o mesmo conta com limitações como fidedignidade das informações obtidas e viés de memória.

## ***6 CONSIDERAÇÕES FINAIS***

---

## **6 Considerações finais**

---

---

De acordo com os achados desse estudo, conclui-se que as crianças constipadas apresentaram um menor número de *Lactobacillus* em sua microbiota intestinal, além de uma maior frequência no consumo de produtos lácteos e guloseimas. Foi observado também um tempo de aleitamento menor e uma maior frequência de parto cesáreo e de história familiar de constipação quando comparadas a crianças não constipadas.

Contudo, devido ao desenho adotado, algumas questões necessitam ser esclarecidas como, por exemplo, se a alteração da microbiota é resultado ou consequência da CICF e se outros fatores, além dos pesquisados nesse estudo, estariam atrelados de alguma forma nesse processo.

Sabe-se que a alimentação exerce um papel na CICF em crianças e que talvez essa entidade seja um reflexo da adaptação da microbiota intestinal frente às modificações alimentares realizadas na infância, como o desmame e a introdução da alimentação complementar. Dessa forma, especula-se se a CICF não constituiria um sintoma quando esse processo de adaptação ocorre de forma mais lenta em crianças e não necessariamente uma doença.

Portanto, torna-se necessário e interessante que outras pesquisas de caráter observacional sejam realizadas em crianças com CICF, principalmente, sob o enfoque da microbiota intestinal e da alimentação, para permitir mais clareza nos fatores envolvidos na fisiopatologia dessa entidade.

---

## *REFERÊNCIAS*

## **Referências**

---

---

- ABEP. Critério Padrão de Classificação Econômica Brasil/2008. Disponível em: <http://www.abep.org>. Acessado em 03 de setembro de 2012.
- AGUIRRE, A.N.C. *et al.* Constipação em lactentes: influência do tipo de aleitamento e da ingestão de fibra alimentar. **J Pediatr.**, v.78, n.3, p.202-208, 2002.
- ALBESHARAT, R. *et al.* Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 148-155, abr. 2011.
- ÁLVAREZ-CALATAYUD, G. *et al.* Clinical applications of the use of probiotics in pediatrics. **Nutrición Hospitalaria**, v. 28, n. 3, p. 564-574, 2013.
- ANDIRAN, F.; DAVI, S.; METE, E. Cows milk consumption in constipation and anal fissure in infants and young children. **J Paediatr Child Health**, v. 39, n. 5, p. 329-331, 2003.
- ARENA, M. P. *et al.* Barley β-glucans-containing food enhances probiotic performances of beneficial bacteria. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 2, p. 3025-3039, jan. 2014.
- ATTALURI, A. *et al.* Methanogenic flora is associated with altered colonic transit but not stool characteristics in constipation without IBS. **Am J Gastroenterol**, v. 105, n. 6, 2010
- AYDOĞDU, S. *et al.* Chronic constipation in Turkish children: clinical findings and applicability of classification criteria. **The Turkish Journal of Pediatrics**, v. 51, n. 2, p. 146-153, 2009.
- AZAD, M. B. *et al.* Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles mode of delivery and infant diet at 4 month. **CMAJ**, v. 185, n. 5, p. 385-394, 2013.
- BANASZKIEWICZ, A.; SZAJEWSKA, H. Ineffectiveness of Lactobacillus GG as an adjunct to lactulose for the treatment of constipation in children: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. **J Pediatr**, v. 146, p. 364-9, 2005.
- BAROUEI, J.; MOUSSAVI, M.; HODGSON, D. M. Effect of maternal probiotic intervention on HPA axis, immunity and gut microbiota in a rat model of irritable bowel syndrome. **PloS One**, v. 7, n. 10, p. e46051, jan. 2012.
- BECKER, N. *et al.* Human intestinal microbiota: characterization of a simplified and stable gnotobiotic rat model. **Gut Microbes**, v. 2, n. 1, p. 25-33, 2011.

- BEKKALI, N.-L.-H. *et al.* The role of a probiotics mixture in the treatment of childhood constipation: a pilot study. **Nutrition Journal**, v. 6, p. 17, jan. 2007.
- BENDTSEN, K. M. *et al.* Gut microbiota composition is correlated to grid floor induced stress and behavior in the BALB/c mouse. **PloS One**, v. 7, n. 10, p. e46231, jan. 2012.
- BERCIK, P. *et al.* The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. **Gastroenterology**, v. 141, n. 2, p. 599-609, 609.e1-3, ago. 2011.
- BERCIK, P. The microbiota gut brain axis: learning from intestinal bacteria. **Gut**, v. 60, n. 3, p. 288-289, 2011.
- BERNAL, M. J. *et al.* Effects of infant cereals with different carbohydrate profiles on colonic function--randomised and double-blind clinical trial in infants aged between 6 and 12 months--pilot study. **European Journal of Pediatrics**, v. 172, n. 11, p. 1535-1542, nov. 2013.
- BEZIRTZOGLOU, E. *et al.* Occurrence of Bifidobacterium in the intestine of newborns by fluorescence in situ hybridization. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 29, p. 345-352, 2006.
- BEZIRTZOGLOU, E.; STAVROPOULOU, E. Immunology and probiotic impact of the newborn and young children intestinal microflora. **Anaerobe**, v. 17, n. 6, p. 369-374, dez. 2011.
- BOROWITZ, S. M. *et al.* Precipitants of constipation during early childhood. **The Journal of the American Board of Family Practice**, v. 16, n. 3, p. 213-8, 2002.
- BOUVIER, M. *et al.* Effects of consumption of a milk fermented by the probiotic Bifidobacterium animalis DN 173 010 on colonic transit time in healthy humans. **Biosci Microflora**, v.20, p. 43-48, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Rede Frio**. 3<sup>a</sup> Ed. Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema do Vigilância Alimentar e Nutricional- SISVAN**. Brasília, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Dez passos para uma alimentação saudável: guia alimentar para crianças menores de dois anos**. 2<sup>a</sup>. Ed. Brasília, 2013.
- BROWN, K. *et al.* Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. **Nutrients**, v. 4, n. 8, p. 1095-119, ago. 2012.
- BROWNAWELL, A. M. *et al.* Prebiotics and the Health Benefits of Fiber : Current Regulatory Status , Future Research , and Goals 1 , 2. **The Journal of Nutrition**, v. 142, p. 962-974, 2012.
- BRÜSSOW, H. Microbiota and healthy ageing: observational and nutritional intervention studies. **Microbial Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 326-34, jul. 2013.
- BU, L.-N. *et al.* Lactobacillus casei rhamnosus Lcr35 in children with chronic constipation. **Pediatrics International**, v. 49, n. 4, p. 485-90, ago. 2007.
- BURKITT, D. P.; WALKER, A.R.P.; PAINTER, N.S. Effect of dietary fibre on stools and transit time and its role in the causation of disease. **The Lancet**, p. 1408-1411, 1972.

- CAICEDO, R. A *et al.* The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. **Pediatric Research**, v. 58, n. 4, p. 625-8, out. 2005.
- CANDELA, M. *et al.* High taxonomic level fingerprint of the human intestinal microbiota by ligase detection reaction--universal array approach. **BMC Microbiology**, v. 10, p. 116, jan. 2010.
- CARABIN, I. G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 3, p. 268-82, dez. 1999.
- CHEN, Y.-C. *et al.* Probiotic supplement use among young children in Taiwan: a prospective cohort study. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e43885, jan. 2012.
- CHMIELEWSKA, A.; SZAJEWSKA, H. Systematic review of randomized controlled trials: probiotics for functional constipation. **World J Gastroenterol**, v.16, p. 69-75, 2010.
- COCCORULLO, P. *et al.* Lactobacillus reuteri (DSM 17938) in infants with functional chronic constipation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. **The Journal of Pediatrics**, v. 157, n. 4, p. 598-602, out. 2010.
- CORTHIER, G.; DORÉ, J. A new era in gut research concerning interactions between microbiota and human health. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, v. 34 Suppl 1, p. S1-6, set. 2010.
- CROWLEY, E. T. *et al.* Does milk cause constipation? A crossover dietary trial. **Nutrients**, v. 5, n. 1, p. 253-66, jan. 2013.
- DAHER, S. *et al.* Cow's milk protein intolerance and chronic constipation in children. **Pediatric Allergy and Immunology** , v. 12, n. 6, p. 339-42, dez. 2001.
- DE FILIPPO, C. *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 33, p. 14691-6, 17 ago. 2010.
- DECKER, E.; HORNEF, M.; STOCKINGER, S. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. **Gut Microbes**, v. 2, n. 2, p. 91-98, 1 mar. 2011.
- DEL CIAMPO, I. R. L. *et al.* Constipação intestinal : um termo desconhecido e distúrbio freqüentemente não reconhecido. **Rev Paul Pediatria**, v. 24, n. 2, p. 111-114, 2006.
- DEL CIAMPO, I.R.L.D. *et al.* Prevalência de constipação intestinal crônica em crianças atendidas em unidade básica de saúde. **J Pediatr.**, v. 78, n. 6, p. 497-502,2002.
- DINNING, P. G.; LORENZO, C. DI. Colonic dysmotility in constipation. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 25, n. 1, p. 89-101, 2011.
- DOMINGUEZ-BELLO, M. G. *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 26, p. 11971-5, 29 jun. 2010.
- DUGHERA, L. *et al.* Effects of symbiotic preparations on constipated irritable bowel syndrome symptoms. **Acta bio-medica**, v. 78, n. 2, p. 111-6, ago. 2007.
- EL OUFIR, L. *et al.* Relations between transit time, fermentation products, and hydrogen consuming flora in healthy humans. **Gut**, v. 38, n. 6, p. 870-7, jun. 1996.

- ENGEL, G.L. The need for a new medical model: a challenge for biomedicina. **Science**, v. 196, p. 129-136, 1977.
- FAN, W. *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in infants during the six months of life. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 133-43, 28 fev. 2014.
- FAVIER, C.F. *et al.* Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. **Appl Environ Microbiol**, v. 68, n. 1, p. 219-26, 2002.
- FERNÁNDEZ, L. *et al.* The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. **Pharmacological Research**, v. 69, p.1-10, 2013.
- FINEGOLD, S. M. *et al.* Fecal microbial flora in Seventh Day Adventist populations and control subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, n. 11, p. 1781-92, nov. 1977.
- FORNÉS, D. *et al.* Escores de consumo alimentar e níveis lipêmicos em população de São Paulo , Brasil Food consumption scores and serum lipids levels in the population of São Paulo , Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 36, n. 1, p. 12-18, 2002.
- FURLAN-VIEBIG, R.; PASTOR-VALERO, M. *et al.* Desenvolvimento de um questionário de freqüência alimentar para o estudo de dieta e doenças não transmissíveis. **Rev Saúde Pública**, v. 38, n. 4, p. 2002-2005, 2004.
- FURNARI, M. *et al.* Reassessment of the role of methane production between irritable bowel syndrome and functional constipation. **Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases**, v. 21, n. 2, p. 157-63, jun. 2012.
- GARRIDO, D.; DALLAS, D. C.; MILLS, D. A. Consumption of human milk glycoconjugates by infant-associated bifidobacteria: mechanisms and implications. **Microbiology**, v. 159, n. 4, p. 649-64, abr. 2013.
- GIBSON, G.; ROBERFROID, M. B. Critical Review Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota : Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. August 1994, p. 1401-1412, 1995.
- GOMES, R. *et al.* Consumo de fibra alimentar e de macronutrientes por crianças com constipação crônica funcional. **Arq Gastroenterol**, v. 40, n. 3, p. 181-187, 2003.
- GRÖNLUND, M.; GRZEŚKOWIAK, Ł. Influence of mother ' s intestinal microbiota on gut colonization in the infant. **Gut Microbes**, n. August, p. 227-233, 2011.
- GROVER, M. *et al.* Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: association with colon motility, bowel symptoms, and phychological distress. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 2009, n. 6, 2013.
- GUEIMONDE,M. *et al.* Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? **Neonatology**, v.92, n.1, p. 64-6, 2007.
- GUERRA, P. V. P. *et al.* Pediatric functional constipation treatment with Bifidobacterium-containing yogurt: a crossover, double-blind, controlled trial. **World Journal of Gastroenterology** , v. 17, n. 34, p. 3916-21, 14 set. 2011.
- GWEE, K. A. *et al.* Increased rectal mucosal expression of interleukin 1B in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. **Inflammation and Motility**, v. 52, p. 523-527, 2003.

- HAARMAN, M.; KNOL, J. Quantitative Real-Time PCR Analysis of Fecal Lactobacillus Species in Infants Receiving a Prebiotic Infant Formula. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 2359-2365, 2006.
- HEINE, R. G. Gastroesophageal reflux disease, colic and constipation in infants with food allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 6, n. 3, p. 220-5, jun. 2006.
- HOLMA, R. *et al.* Constipation Is Relieved More by Rye Bread Than Wheat Bread or Laxatives without Increased Adverse Gastrointestinal Effects 1 , 2. **Nutrition and Disease**, v. 140, p. 534-541, 2010.
- HOPKINS, M. J.; SHARP, R.; MACFARLANE, G. T. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. **Gut**, v. 48, n. 2, p. 198-205, fev. 2001.
- HUNT, K. M. *et al.* Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. **PloS One**, v. 6, n. 6, p. e21313, jan. 2011.
- HUSEBYE, E. *et al.* Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v.280, p.G368-G380,2001.
- HYMAN, P. E. *et al.* Childhood functional gastrointestinal disorders: neonatal/toddler. **Gastroenterology**, v. 130, p. 1519-1526, 2006.
- IACONO, G. *et al.* Intolerance of cow's milk and chronic constipation in children. **The New England Journal of Medicine**, v. 339, p. 1100-1104, 1998.
- IBGE. Censo demográfico 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 11 de maio de 2014.
- IP, K. S. *et al.* A community-based study of the prevalence of constipation in young children and the role of dietary fibre. **Hong Kong Medical Journal**, v. 11, n. 6, p. 431-6, dez. 2005.
- IWATA, E.; HOTTA, H. ; GOTO, M. The Screening Method of a Bifidogenic Dietary Fiber Extracted. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 55, p. 385-388, 2009.
- JEFFERY, I. B.; O'TOOLE, P. W. Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living. **Nutrients**, v. 5, n. 1, p. 234-52, jan. 2013.
- KASHYAP, P. C. *et al.* Complex interactions among diet, gastrointestinal transit, and gut microbiota in humanized mice. **Gastroenterology**, v. 144, n. 5, p. 967-977, 2013.
- KAU,A.L. *et al.* Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. **Nature**, v. 474, p. 327-36, 2011.
- KAUR N. ; GUPTA, G. A. Review Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **J Biosci**, v. 27, n. 7, p. 703-714, 2002.
- KHALIF, I. L. *et al.* Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation. **Digestive and Liver Disease** , v. 37, n. 11, p. 838-849, nov. 2005.
- KHODADAD, A.; SABBAGHIAN, M. Role of synbiotics in the treatment of childhood constipation: a double-blind randomized placebo controlled trial. **Iranian Journal of Pediatrics**, v. 20, n. 4, p. 387-392, dez. 2010.

- KOCAAY, P.; EGRITAS, O.; DALGIÇ, B. Normal defecation pattern, frequency of constipation and factors related to constipation in turkish children 0-6 years old. **Turk J Gastroenterol**, v. 22, n.4, p. 369-375, 2011.
- KOENIG, J. E. *et al.* Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108 Suppl , p. 4578-85, 15 mar. 2011.
- KOOP-HOOLIHAN L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **J Am Diet Assoc**, v. 101, p. 229-238, 2001.
- LARA-VILLOSLADA, F. *et al.* Safety assessment of the human milk-isolated probiotic Lactobacillus salivarius CECT5713. **J Dairy Sci**, v. 90, n.8, p. 3583-9, 2007.
- LEBON, A. *et al.* Correlation of bacterial colonization status between mother and child: the Generation R Study. **Journal of clinical Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 960-2, mar. 2010.
- LOENING-BAUCKE, V. Constipation in early childhood: patient characteristics, treatment, and longterm follow up. **Gut**, v. 34, n. 10, p. 1400-4, out. 1993.
- MACKIE, R. I.; SGHIR, A; GASKINS, H. R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 5, p. 1035S-1045S, maio. 1999.
- MADRID, A. M. *et al.* Sobrecrecimiento bacteriano. **Rev Med Chile**, v. 135, p. 1245-1252, 2007.
- MAFFEI, H. V. L. *et al.* História clínica e alimentar de crianças atendidas em ambulatório de gastroenterologia pediátrica ( GEP ) com constipação intestinal crônica funcional ( CICF ) e suas possíveis complicações. **Jornal de Pediatria**, v. 70, p. 0-6, 1994.
- MAKINO, H. *et al.* Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 19, p. 6788-93, out. 2011.
- MARTEAU, P. *et al.*. *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. **Aliment Pharmacol Ther**, v.16, p. 587-593, 2002.
- MARTÍN, R. *et al.* *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, n. 1, p. 35-43, 15 out. 2006.
- MARTÍN, R.*et al.* Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. **J Pediatr**, v.143, n. 6, p. 754-8, 2003.
- MARTÍNEZ, I. *et al.* Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. **PloS One**, v. 5, n. 11, p. e15046, jan. 2010.
- MATAMOROS, S. *et al.* Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. **Trends in Microbiology**, v. 21, n. 4, p. 167-73, abr. 2013.
- MATSUKI, T. *et al.* Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S RNA gene-targeted species-specific primers. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.65, p.4506-4512, 1999.

- MCALLAN, L. *et al.* Protein quality and the protein to carbohydrate ratio within a high fat diet influences energy balance and the gut microbiota In C57BL/6J mice. **PloS One**, v. 9, n. 2, p. e88904, jan. 2014.
- MELLO, S. C. *et al.* Consumo de fibra alimentar por crianças e adolescentes com constipação crônica: influência da mãe ou cuidadora e relação com excesso de peso. **Rev Paul Pediatria**, v. 28, n. 2, p. 188-193, 2010.
- MELO, M. R. *et al.* Coleta , transporte e armazenamento de amostras para diagnóstico molecular. **J Bras Patol Med Lab**, v. 46, n. 5, p. 375-381, 2010.
- MIKAMI, K. *et al.* Influence of maternal bifidobacteria on the establishment of bifidobacteria colonizing the gut in infants. **Pediatric Research**, v. 65, n. 6, p. 669-74, jun. 2009.
- MITSOU, E. *et al.* Fecal microflora of greek healthy neonates. **Anaerobe**, v. 14, n.2, p. 94-101, 2008.
- MORAIS, M. B. DE; MAFFEI, H. V. L. Constipação intestinal. **Journal de Pediatria**, v. 76, p. 147-156, 2000.
- MOTTA, M.E.F.A; SILVA, G.A.P. Constipação intestinal crônica funcional na infância: diagnóstico e prevalência em uma comunidade de baixa renda. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v.74, p. 451-4, 1998.
- MUGIE, S. M.; DI LORENZO, C.; BENNINGA, M. A. Constipation in childhood. **Nature reviews. Gastroenterology & hepatology**, v. 8, n. 9, p. 502-11, set. 2011.
- MUINCK, E. J. DE *et al.* Diversity , transmission and persistence of Escherichia coli in a cohort of mothers and their infants. **Environmental Microbiology**, v. 3, p. 352-359, 2011.
- MUIR, J. G. *et al.* Combining wheat bran with resistant starch has more beneficial effects on fecal indexes than does wheat bran alone. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p. 1020-8, jun. 2004.
- NAKAMURA, T.; NISHIDA, S.; IINO, H. Effects of Yogurt Supplemented and with Intestinal Brewer ' s Microflora Yeast on Constipation in Rats. **J Nutr Sci Vitaminol**, v. 47, p. 367-372, 2001.
- ONO, S. *et al.* A Pilot Study of the Relationship between Bowel Habits and Sleep Health by Actigraphy Measurement and Fecal Flora Analysis. **Journal of Physiological Anthropology**, v. 27, p. 145-151, 2005.
- PALMER, C. *et al.* Development of the human infant intestinal microbiota. **PLoS Biology**, v. 5, n. 7, p. e177, jul. 2007.
- PANDEY, P.K. *et al.* Comparative analysis of fecal microflora of health full-term Indian infants born with different methods of delivery (vaginal vs cesarean): Acinetobacter sp. prevalence in vaginally born infants. **J. Biosci**, v. 37, n. 6, p. 989-998, 2012.
- PAYNE, A. N. *et al.* The composition and metabolic activity of child gut microbiota demonstrate differential adaptation to varied nutrient loads in an in vitro model of colonic fermentation. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 80, n. 3, p. 608-23, jun. 2012.
- PENDERS, J. *et al.* Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. **Pediatrics**, v. 118, n. 2, p. 511-21, ago. 2006.

- PENDERS, J. *et al.* Quantification of *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* and *Clostridium difficile* in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. **FEMS Microbiology Letters**, v. 243, n. 1, p. 141-7, 1 fev. 2005.
- PICARD, C. *et al.* Review article: bifidobacteria as probiotic agents- physiological effects and clinical benefits. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 22, n.6, p. 495-512, 2005.
- PINHO, C. *et al.* Excesso de peso em adultos do Estado de Pernambuco , Brasil : magnitude e fatores associados. **Caderno Saúde Pública**, v. 27, n. 12, p. 2340-2350, 2011.
- POKUSAeva, K.; FITZGERALD, G. F.; VAN SINDEREN, D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. **Genes & Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 285-306, ago. 2011.
- PROSKY, L. What is dietary fibre? New look at the definition. In: MCCLEARY, B.V.; PROSKY, L. **Advanced Dietary Fibre Technology**. Londres, Blackwell Science, p.63-76, 2001.
- RASQUIN-WEBER, A *et al.* Childhood functional gastrointestinal disorders. **Gut**, v. 45 Suppl 2, n. Suppl II, p. II60-8, set. 1999.
- ROGER, L. C.; MCCARTNEY, A. L. Longitudinal investigation of the faecal microbiota of healthy full-term infants using fluorescence in situ hybridization and denaturing gradient gel electrophoresis. **Microbiology**, v. 156, p. 3317-3328, 2010.
- ROMA, E. *et al.* Diet and chronic constipation in children: the role of fiber. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 169-174, 1999.
- SALMINEN, S. *et al.* Functional food science and gastrointestinal physiology and function. **The British Journal of Nutrition**, v. 80, Suppl 1, p. S147-71, ago. 1998.
- SATOKARI, R. M. *et al.* Diversity of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp . in Breast-F ed and F ormula-F ed Infants as Assessed by 16S rDNA Sequence Differences. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 14, p. 97-105, 2002.
- SHEN, Q. *et al.* In vitro measurement of the impact of human milk oligosaccharides on the faecal microbiota of weaned formula-fed infants compared to a mixture of prebiotic fructooligosaccharides and galactooligosaccharides. **Letters in Applied Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 337-43, abr. 2011.
- SIMRÉN, M. *et al.* Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. **Gut**, v. 62, n. 1, p. 159-76, jan. 2013.
- SLATER, B. *et al.* Validação de Questionários de Freqüência Alimentar - QFA : considerações metodológicas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 6, n. 3, p. 200-208, 2003.
- SLAVIN. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 10, p. 1716-1731, out. 2008.
- SOUTHWELL, B. R.; KING, S. K.; HUTSON, J. M. Chronic constipation in children : Organic disorders are a major cause. **J. Paediatr. Child Health**, v. 41, p. 1-15, 2005.
- SOYLU, O. B. Clinical Findings of Functional and Secondary Constipation in Children. **Iran J Pediatr**, v. 23, n. 3, p. 353-356, 2013.

- TABBERS, M. M. *et al.* Effect of the consumption of a fermented dairy product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on constipation in childhood: a multicentre randomised controlled trial. **BMC pediatrics**, v. 9, p. 22, jan. 2009.
- TABBERS, M. M. *et al.* Fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 in childhood constipation: a randomized, double-blind, controlled trial. **Pediatrics**, v. 127, n. 6, p. e1392-9, jun. 2011.
- TAKAHASHI, H. *et al.* Comparative analysis of the properties of bifidobacterial isolates from fecal samples of mother-infant pairs. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 51, n. 5, p. 653-660, nov. 2010.
- VAISHAMPAYAN, P. A *et al.* Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. **Genome Biology and Evolution**, v. 2, p. 53-66, jan. 2010.
- VAN DEN ABEELE, P. *et al.* Prebiotics, faecal transplants and microbial network units to stimulate biodiversity of the human gut microbiome. **Microbial Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 335-40, jul. 2013.
- VESTMAN, N. R. *et al.* Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. **BMC Microbiology**, v. 13, p. 193, jan. 2013.
- VITOLO, M.R. *et al.* Estimativa do consumo de fibra alimentar por crianças de acordo com diferentes tabelas de composição de alimentos. **Arq Latinoam Nutr**, v. 48, p.141-145, 1998.
- VIVES, C. A.; ALLUÉ, P. I. Case-control study of risk factors associated with constipation. The FREI study. **An Pediatr**, v. 62, n. 4, p. 340-345, 2005.
- WALKER, A. W. *et al.* pH and Peptide Supply Can Radically Alter Bacterial Populations and Short-Chain Fatty Acid Ratios within Microbial Communities from the Human Colon pH and Peptide Supply Can Radically Alter Bacterial Populations and Short-Chain Fatty Acid Ratios within Mi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 3692-3700, 2005.
- WEBER, T. K.; POLANCO, I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2012, p. 676585, jan. 2012.
- WU, G. D. *et al.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. **Science**, v. 334, n. 6052, p. 105-8, 7 out. 2011.
- YANG, S. S.-D. *et al.* Advances in non-surgical treatments for urinary tract infections in children. **World Journal of Urology**, v. 30, n. 1, p. 69-75, fev. 2012.
- YU, Z.T. *et al.* The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota. **Glycobiology**, v. 23, n. 2, p. 169-77, fev. 2013.
- ZARATE, N.; CCT, P.; SPENCER, N. J. Chronic constipation : Lessons from animal studies. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 25, n. 1, p. 59-71, 2011.
- ZHANG, C. *et al.* Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. **The ISME journal**, v. 4, n. 2, p. 232-41, fev. 2010.
- ZOETENDAL, E. G.; DE VOS, W. M. Effect of diet on the intestinal microbiota and its activity. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 30, n. 2, p. 189-95, mar. 2014.

## *APÊNDICES*

---

**Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Convido a Sra. e seu filho para participarem, como voluntários, da pesquisa Constipação crônica funcional em lactentes: o compartilhamento da microbiota fecal no binômio mãe-filho, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Joyce Gomes de Moraes, endereço Centro de Saúde Antônio Luís de Souza. Rua Prof. Luís Gonzaga P. da Silva, 164, Timbi-Camaragibe. CEP: 54762-470. Tel: 81-3456-1297 e está sob a orientação de: Profa. Maria Eugênia Motta.

Esse termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Por favor, me pergunte sobre palavras ou informações que você não entenda bem.

O presente estudo, que tem como objetivo estudar as bactérias do bem que vivem dentro do seu intestino e do intestino do seu filho e se a alimentação de ambos ajuda ou atrapalha essas bactérias do bem.

Caso a senhora e o seu filho queiram participar, será explicado como acontecerá todas as fases do estudo e solicitaremos a participação de vocês por escrito. A participação da senhora e do seu filho no estudo é voluntária, caso não deseje que ele ou a senhora participem, isso não impedirá o acompanhamento dos dois no Hospital das Clínicas ou no Centro de Saúde Antônio Luiz de Souza ,em Camaragibe. A senhora tem total de liberdade de desistir de participar em qualquer momento do estudo, sem nenhum prejuízo.

Nesse estudo, será realizada uma entrevista sobre o nascimento do seu filho, sua gestação, a alimentação de ambos e aspectos sociais. Tanto a senhora como o seu filho serão medidos e pesados. Será solicitado ainda que a senhora forneça uma amostra de suas fezes e da criança, as quais ficarão guardadas em um freezer até a realização da análise. Os dados coletados na pesquisa ficarão guardados no computador pessoal da pesquisadora principal, no endereço profissional acima indicado, por um período de cinco anos.

**RISCOS E BENEFÍCIOS:** Os riscos de estudo são: sentir vergonha no momento da entrega do pote com a amostra de fezes ou constrangimento durante a realização de alguma pergunta que a senhora não saiba responder. Caso alguma pergunta lhe cause vergonha, a senhora terá o direito de não respondê-la. Caso sinta vergonha para entregar o pote com amostra de fezes, será cedido um saco plástico preto descartável para envolver o pote. Os benefícios são: caso a senhora ou seu filho apresente alteração nas bactérias do bem presente no intestino de vocês e/ou uma alimentação inadequada, os dois serão encaminhados para acompanhamento no posto de saúde ou ambulatório, onde receberão as orientações necessárias.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – email: cepccs@ufpe.br).

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

---

Joyce Gomes de Moraes  
Pesquisadora Responsável/Assinatura

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO**

Eu, \_\_\_\_\_, e meu/minha filho/a \_\_\_\_\_, RG/ CPF/\_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo: Constipação crônica funcional em lactentes: o compartilhamento da microbiota fecal no binômio mãe-filho, como voluntária. Fui devidamente informada e esclarecida pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento.

Local e data \_\_\_\_\_

Nome e Assinatura da participante \_\_\_\_\_

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Testemunha \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Testemunha \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

**Apêndice B – Formulário de coleta dos dados****Identificação:**

Nome Completo da mãe: \_\_\_\_\_

Nome Completo da criança: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Referência: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_

Unidade de Saúde: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_

Agente de Saúde: \_\_\_\_\_

Telefone:(Agente de Saúde): \_\_\_\_\_

Local da entrevista: \_\_\_\_\_

1. Número:
2. Data da entrevista:
3. Data de nascimento da mãe:
4. Data de nascimento da criança:
5. Sexo da criança:  
0.feminino 1.masculino

**HISTÓRIA DO PRÉ-NATAL**

6. Você fez pré-natal?  
0.Sim 1.Não
7. Ganhou quantos quilos durante a gestação? (ver cartão e anotar)  
99. Não sabe
8. Tomou antibiótico durante a gestação?  
0. Sim 1.não 9. Não sabe anotar nome:\_\_\_\_\_
9. Se SIM, quantas vezes?  
9. Não sabe 0. Várias
10. Se SIM, em que mês da gestação?  
9. Não sabe
11. Tomou probiótico (Yakult®, Activia®, Repoflor®, Florax®, Lactofor®) durante a gestação?  
0.Sim 1.não 9. Não sabe anotar nome:\_\_\_\_\_

12. Se SIM, quantas vezes?  
9. Não sabe 0. Várias
13. Se SIM, em que mês da gestação?  
9. Não sabe
14. Tomou suplemento de fibras (Benefiber®, Muvinor®, Linhaça, Aveia) durante a gestação?  
0. Sim 1.não 9. Não sabe anotar nome: \_\_\_\_\_
15. Se SIM, quantas vezes?  
9. Não sabe 0. Várias
16. Se SIM, em que mês da gestação?  
9.Não sabe
17. Seu intestino ficou preso durante a gestação?  
0.Sim 1.Não 9. Não sabe
18. Se SIM, a partir de que mês?  
9. não sabe
19. Qual foi o tipo de parto?  
0.Vaginal 1. Cesárea

### **HISTÓRIA PERI-NATAL E PÓS-NATAL IMEDIATO**

20. Sua criança nasceu no tempo?  
0.Sim 1.Não 9. Não sabe
21. Qual foi o peso de nascimento? (ver cartão e anotar)  
9999. dado omissso
22. Apgar (ver prontuário)  
99.dado omissso
23. Capurro (ver prontuário)  
99.dado omissso
24. Sua criança teve algum problema de saúde quando nasceu?  
0.Sim 1.Não 9. Não sabe
25. Se SIM, qual foi o problema de saúde?  
9.não sabe

## HISTÓRIA ALIMENTAR

26. Você amamentou seu bebê na sala de parto?  
0.Sim 1.Não 9. Não sabe
27. Na maternidade, seu bebê usou mamadeira?  
0.Sim 1.Não 9. Não sabe
28. Ao sair da maternidade, como o bebê estava sendo alimentado?  
0. Só com leite materno 1. Só com mamadeira 2. Com leite materno e mamadeira  
3.Outro 9.Não lembra
29. Se o aleitamento materno foi exclusivo (sem água, chás, outros leites ou alimento), por quanto tempo?  
0. Nunca mamou 1. Não foi exclusivo 9. Não se lembra
30. Até que idade o bebê mamou no peito?  
0. Nunca mamou 1. Ainda mama 9. Não se lembra
31. Qual o nome do primeiro leite que usou?  
9.não sabe
32. Quais foram os primeiros alimentos de sua criança?  
9.não sabe
33. Em que idade sua criança começou a comer a mesma alimentação da família?  
99.não sabe

## HISTÓRIA MÃE-FILHO PARA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL

34. Você tem prisão de ventre?(ver critério ROMA)  
0.Sim 1.Não
35. Se SIM, por quanto tempo você tem prisão de ventre?  
99. Não sabe
36. Há quanto tempo sua criança tem prisão de ventre?  
99. não sabe

## HISTÓRIA FAMILIAR PARA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL

37. Existe alguém na família que tenha prisão de ventre?  
99. não sabe
38. Se SIM, quem da família tem prisão de ventre?

## ANAMNESE ALIMENTAR

39. Avaliação alimentar da mãe (ver recordatório)

---

---

---

40. Avaliação alimentar da criança (ver recordatório)

---

---

---

## AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA

41. Avaliação da condição sócio-econômica (ver questionário ABEP)

---

---

---

## ANTROPOMETRIA MATERNA

42. Peso materno atual

99.dado omissio

43. Altura materna:

99.dado omissio

44. IMC materno:

99.dado omissio

45. Diagnóstico nutricional da mãe:

0. Baixo peso 1. Eutrofia 2.sobrepeso

## ANTROPOMETRIA DA CRIANÇA

46. Peso atual da criança:

9999. dado omissio

47. Estatura atual da criança:

999.dado omissio

48. IMC/I:

9.dado omissio

49. Diagnóstico nutricional da criança:

0. Baixo peso 1. Eutrofia 2.sobrepeso

**EXAME DE FEZES**

50. Data da coleta de fezes da mãe
51. Horário da coleta de fezes da mãe
52. Horário da entrega da coleta de fezes
53. Data da coleta de fezes da criança
54. Horário da coleta de fezes da criança
55. Horário da entrega da coleta de fezes da criança
56. Resultado da análise PCR em tempo real:

## ***ANEXOS***

---

## Anexo A – Questionário de sintomas gastrointestinais pediátrico

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
AMBULATÓRIO DE GASTROENTEROLOGIA PEDIÁTRICA  
MARIA EUGÉNIA FARIA ALMEIDA MOTTA**

1. Criança nº \_\_\_\_\_  
2. Nome da criança \_\_\_\_\_

3. Registro nº \_\_\_\_\_  
4. Sexo: [1]masculino [2]feminino  
5. Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
6. Data da consulta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Nome da mãe \_\_\_\_\_

Fone: \_\_\_\_\_  
Endereço: \_\_\_\_\_

### CARACTERIZAÇÃO DO HÁBITO INTESTINAL

7. Seu filho faz cocô quantas vezes por semana? \_\_\_\_\_ [9]sem informação  
8. Seu filho precisa fazer muita força para fazer cocô?  
[1]sim [2]não [9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
9. Seu filho diz que sente dor no momento em que o cocô está saindo do bumbum?  
[1]sim [2]não [9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
10. Como é a aparência do cocô do seu filho?  
[1]endurecidas e ressecadas [2] pastosas [3]líquidas  
[9] sem informação  
Quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
11. Como é a grossura do cocô do seu filho?  
[1]grande (> salsicha) [2]normal (< salsicha)  
[3]cíbalos [9] sem informação  
Quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
12. Às vezes o cocô do seu filho entope o sanitário?  
[1]sim [2]não [9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
13. Como é a forma do cocô do seu filho?  
[1]amorfo [2]cíbalos [3]cilíndrico, sem rachaduras  
[4]cilíndrico, com rachaduras [5]em fita  
[6]seixos [9]sem informação  
Outros: \_\_\_\_\_  
Quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
14. Às vezes, o cocô vaza na roupa do seu filho?  
[1]sim [2]não [8] não se aplica  
[9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_  
15. Qual o momento que acontece :  
[1]de dia [2]à noite [3]ambos  
[8]não se aplica [9] sem informação  
16. Às vezes, seu filho tenta não fazer o cocô, esticando as pernas ou prendendo o bumbum?  
[1]sim [2]não [9]sem informação

Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_

17. Seu filho tem medo de fazer cocô?  
[1]sim [2]não [9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_

18. Seu filho tem medo de sentar no sanitário ou penico?  
[1]sim [2]não [9]sem informação  
Se SIM, quantas vezes por semana acontece? \_\_\_\_\_  
Há quanto tempo a senhora acha que isso está acontecendo? \_\_\_\_\_

19. Há quanto tempo seu filho tem o intestino preso (prisão de ventre)? \_\_\_\_\_ meses ou \_\_\_\_\_ anos [9] sem informação

20. Com que idade seu filho começou a ter o intestino preso (prisão de ventre)? \_\_\_\_\_ dias ou \_\_\_\_\_ meses ou \_\_\_\_\_ anos [9] sem informação

**Se tem pelo menos dois dos seguintes: < 2 defecações por semana, no mínimo um episódio de incontinência fecal por semana, relato de comportamento retentivo, episódios de fezes duras ou de dor durante a defecação, evacuação de fezes de grande diâmetro que podem obstruir o sanitário, NO MÍNIMO UMA VEZ POR SEMANA, HÁ PELO MENOS 2 MESES SE  $\geq$  DE 4 ANOS OU HÁ PELO MENOS 1 MÊS SE < 4 ANOS.**

### CONSIDERAR COM CONSTIPACÃO CRÔNICA FUNCIONAL

1. Nos últimos 2 meses, quantas vezes seu (sua) filho (a) sentiu a barriga dolorida ou dor *ao redor do umbigo ou para baixo do umbigo?*  
0. \_\_\_\_ Nunca 1. \_\_\_\_ 1 a 3 vezes no mês  
2. \_\_\_\_ 1 vez na semana 3. \_\_\_\_ Várias vezes na semana  
4. \_\_\_\_ Todos os dias  
2. Qual a força da dor que seu (sua) filho (a) sente *ao redor ou para baixo do umbigo* nos últimos 2 meses?  
1. \_\_\_\_ Fraca 2. \_\_\_\_ Nem fraca, nem forte  
3. \_\_\_\_ Forte 4. \_\_\_\_ Muito forte 9. \_\_\_\_ Eu não sei  
3. Quando seu (sua) filho (a) sente dor ou desconforto *ao redor ou para baixo do umbigo*, quanto tempo isso dura?  
1. \_\_\_\_ Menos de 1 hora 2. \_\_\_\_ 1 a 2 horas  
3. \_\_\_\_ 3 a 4 horas 4. \_\_\_\_ A maior parte do dia  
5. \_\_\_\_ O dia todo  
4. Faz quanto tempo que seu (sua) filho (a) sente a barriga dolorida ou dor *ao redor ou para baixo do umbigo?*  
1. \_\_\_\_ 1 mês ou menos 2. \_\_\_\_ 2 meses  
3. \_\_\_\_ 3 meses 4. \_\_\_\_ 4 a 11 meses  
5. \_\_\_\_ 1 ano ou mais  
5. Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, passa depois que ele (ela) faz cocô?  
0. \_\_\_\_ Nunca 1. \_\_\_\_ Uma vez perdida  
2. \_\_\_\_ Algumas vezes 3. \_\_\_\_ A maioria das vezes  
4. \_\_\_\_ Sempre 9. \_\_\_\_ Não Sei  
6. Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, o cocô dele (a) fica mais ralo ou mais líquido do que o normal?  
0. \_\_\_\_ Nunca 1. \_\_\_\_ Uma vez perdida  
2. \_\_\_\_ Algumas vezes 3. \_\_\_\_ A maioria das vezes  
4. \_\_\_\_ Sempre 9. \_\_\_\_ Não Sei  
7. Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, o cocô dele(a) fica mais duro ou como cocô de cabra do que o normal?  
0. \_\_\_\_ Nunca 1. \_\_\_\_ Uma vez perdida  
2. \_\_\_\_ Algumas vezes 3. \_\_\_\_ A maioria das vezes  
4. \_\_\_\_ Sempre 9. \_\_\_\_ Não Sei

- 8.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele(a) faz cocô mais vezes do que o normal?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 9.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele(a) faz cocô menos vezes do que o normal?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 10.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele(a) sente a barriga inchada?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 11.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele(a) sente dor de cabeça?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 12.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele (a) tem dificuldade para dormir?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 13.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele (a) tem dor nos braços, nas pernas ou nas costas?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 14.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele (a) sente fraqueza ou tontura?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei
- 15.** Nos últimos 2 meses, quando seu (sua) filho (a) tem dor na barriga, ele (a) falta a escola ou pára de fazer as atividades (brincadeiras, estudo)?  
 0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei

**SÍNDROME DO INTESTINO IRRITÁVEL**1 = resposta 2, 3 ou 4 **MAIS**

5 = resposta 2, 3, 4 ou 5

**ASSOCIADA COM 2 OU MAIS DOS SEGUINTES**

6 = resposta algumas vezes, a maioria das vezes, sempre

7 ou 8 = resposta algumas vezes, a maioria das vezes, sempre

9 ou 10 = resposta algumas vezes, a maioria das vezes, sempre

**Fazer cocô (“fezes”, “número 2”)****1.** Quantas vezes seu (sua) filho (a) faz cocô na maioria das vezes, nos últimos 2 meses?

1.  2 ou menos vezes na semana  
 2.  3 a 6 vezes na semana  
 3.  Uma vez no dia      4.  2 a 3 vezes no dia  
 5.  Mais de 3 vezes no dia      9.  Eu não sei

**2.** Como é o cocô de seu (sua) filho (a) nos últimos 2 meses?

1.  Muito duro      2.  Duro  
 3.  Nem duro, nem mole  
 4.  Muito pastoso ou mole  
 5.  Mais líquido  
 6.  Depende (seu cocô nem sempre é o mesmo)  
 9.  Eu não sei

**2a.** Se o cocô de seu (sua) filho (a) fica duro, há quanto tempo ele está ficando duro?

0.  Menos de 1 mês      1.  1 mês  
 2.  2 meses      3.  3 meses ou mais

- 3.** Seu (sua) filho (a) se queixa de dor quando o cocô está saindo nos últimos 2 meses?  
 0.  Não      1.  Sim      9.  Eu não sei

**4.** Nos últimos 2 meses ele (a) teve que ir às pressas para o sanitário para fazer cocô?

0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei

**5.** Nos últimos 2 meses ele (a) teve que se espremer (fazer muita força) para fazer o cocô sair?

0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei

**6.** Nos últimos 2 meses seu (sua) filho (a) coloca catarro (branco, amarelado ou visguento) no cocô?

0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei

**7.** Nos últimos 2 meses seu (sua) filho (a) sente que ainda tem cocô no bumbum mesmo quando termina de fazer cocô (como se tivesse mais cocô para sair)?

0.  Nunca      1.  Uma vez perdida  
 2.  Algumas vezes      3.  A maioria das vezes  
 4.  Sempre      9.  Não Sei

**8.** Nos últimos 2 meses, seu (sua) filho (a) fez um cocô tão grande que entupiu o sanitário?

0.  Não      1.  Sim

**9.** Algumas crianças prendem o cocô mesmo quando tem um banheiro perto. Elas podem endurecer o corpo ou cruzar as pernas. Nos últimos 2 meses, quantas vezes seu (sua) filho (a) tentou prender o cocô quando estava em casa?

0.  Nunca      1.  1 a 3 vezes no mês  
 2.  Uma vez no mês      3.  Várias vezes no semana  
 4.  Todos os dias

**10.** Um médico ou uma enfermeira já examinou seu (sua) filho (a) e disse que ele (a) tinha muito cocô na barriga?

0.  Não      1.  Sim

**11.** Quantas vezes seu (sua) filho (a) manchou ou sujou a roupa de cocô nos últimos 2 meses?

0.  Nunca. Se nunca, por favor vá para a seção D.  
 1.  Menos de uma vez no mês  
 2.  1 a 3 vezes no mês  
 3.  Uma vez no mês  
 4.  Várias vezes no semana  
 5.  Todos os dias

**11a.** Como é a mancha ou o sujo na roupa de seu (sua) filho (a)?

1.  A roupa fica só manchada (sem cocô)  
 2.  Fica um pouco de cocô na roupa  
 3.  Fica muito cocô na roupa

**11b.** Faz quanto tempo que seu (sua) filho (a) mancha ou suja a roupa de cocô?

1.  1 mês ou menos      2.  2 meses  
 3.  3 meses      4.  4 a 11 meses  
 5.  1 ano ou mais

**Constipação funcional (DOIS OU MAIS)**

1 = resposta 1      8 = resposta 1

2 = resposta 1 ou 2      9 = resposta 2, 3 ou 4

3 = resposta 1      10 = resposta 1

11 = resposta

**Anexo B – Questionário de frequênciia alimentar**

Alimentos do grupo (1): <b>CEREAIS, TUBÉRCULOS E RAÍZES</b>	<b>FREQUENCIA DO CONSUMO</b>
1. Arroz	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
2. Macarrão	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
3. Farinha de mandioca	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
4. Pão Frances	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
5. Pão doce	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
6. Pão integral	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
7. Biscoito sem recheio ou recheado	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
8. Bolacha salgada	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
9. Bolo	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
10. Cuscuz (fubá), angu, xerém	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
11. Batata-inglesa cozida (purê)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
12. Macaxeira	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
13. Batata-doce	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
14. Milho	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
15. Aveia	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
16. Fruta-pão	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
17. Inhame ou cará	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
18. Banana comprida cozida	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
Alimentos do Grupo (2): <b>FEIJÕES e outros alimentos vegetais ricos em proteína</b>	<b>FREQUENCIA DO CONSUMO</b>
19. Feijão (verde, macassar, mulatinho...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
20. Ervilha (seca)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
21. Fava ou Grão de bico	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
22. Soja	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>
23. Castanhas	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 <b>D S M A</b>

Alimentos do Grupo (3): <b>FRUTAS, LEGUMES E VERDURAS</b>	<b>FREQUENCIA DO CONSUMO</b>
1. Mamão	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
2. Maçã	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
3. Melancia ou melão	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
4. Abacaxi	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
5. Abacate	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
6. Manga	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
7. Morango	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
8. Uva	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
9. Jaca	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
10. Goiaba	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
11. Pêra	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
12. Banana prata, maçã, pacovan	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
13. Laranja e tangerina	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
14. Pinha ou graviola	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
15. Alface, rúcula ou acelga	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
16. Couve	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
17. Pepino	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
18. Repolho	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
19. Chuchu	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
20. Cenoura	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
21. Berinjela	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
22. Jerimum	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
23. Quiabo	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
24. Maxixe	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
25. Beterraba	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
26. Tomate	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
27. Cebola (em salada)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
28. Cajá	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A

Alimentos do Grupo (4): <b>LEITE e DERIVADOS, CARNES e OVOS</b>	<b>FREQUENCIA DO CONSUMO</b>
1. Leite (vaca) integral	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
2. Leite (vaca) desnatado	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
3. Queijos (prato, manteiga, mussarela)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
4. Queijo coalho ou ricota	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
5. Requeijão light	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
6. Requeijão cremoso	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
7. Iogurtes ou bebidas lácteas	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
8. Creme de leite	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
9. Ovos	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
10. Peixes fresco	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
11. Bacalhau	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
12. Charque, carne de sol (carnes salgadas)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
13. Frango	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
14. Visceras (rins, fígado, coração, moela...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
15. Carne c/ osso (tipo: costela, paleta, ...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
16. Carne s/ osso (músculo, patinho, alcatra...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
17. Carne de porco	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
Alimentos Grupo (5): <b>ENLATADOS, EMBUTIDOS E CONSERVAS</b>	<b>FREQUENCIA DO CONSUMO</b>
1. Sardinha ou atum (enlatados)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
2. Presunto ou fiambre	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
3. Mortadela ou kitut	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
4. Salsicha ou linguiça	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
5. Ervilha, azeitona, palmito, milho verde...	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A

Alimentos do Grupo (6): OUTROS ALIMENTOS	FREQUENCIA DO CONSUMO
1. Pizza	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
2. Maionese	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
3. Salgados (coxinha, pastel, quibe, empada...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
4. Salgadinhos ( <i>cheetos</i> ) e pipoca	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
5. Batata-frita	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
6. Hambúrgueres (carne)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
7. Bombons, pirulitos	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
8. Sobremesas (pudim, brigadeiro, tortas...)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
9. Açúcar	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
10. Rapadura	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
11. Refrigerantes	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
12. Refrigerantes light ou diet	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
13. Adoçante	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
14. Café	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
15. Chá	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
16. Chocolate em pó (nescau)	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
17. Chocolate	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
18. Sucos artificiais	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
19. Cerveja	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
20. Outras bebidas alcoólicas	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
21. Margarina	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
22. Manteiga	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A
23. Azeite	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 D S M A

## Anexo C – Critério de classificação econômica Brasil

O Critério de Classificação Econômica Brasil, enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de “classes sociais”. A divisão de mercado definida abaixo é de **classes econômicas**.

### SISTEMA DE PONTOS

#### Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

#### Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1º. Grau	0
Primário completo/ Ginásial incompleto	Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1º. Grau	1
Ginásial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1º. Grau completo	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2º. Grau completo	4
Superior completo	Superior completo	8

#### CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

**Anexo D – Parecer consubstanciado do CEP**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
PERNAMBUCO CENTRO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Constipação crônica funcional em lactentes: o compartilhamento da microbiota intestinal no binômio mãe-filho

**Pesquisador:** JOYCE GOMES DE MORAES

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 10165312.9.0000.5208

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 165.098

**Data da Relatoria:** 05/12/2012

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de mestrado da Estudante Joyce Gomes de Moraes, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Neste projeto se avaliará a constipação crônica funcional em lactentes e o compartilhamento da microbiota intestinal no binômio mãe-filho. O estudo será realizado no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do HC-UFPE e do Centro de Saúde Antônio Luiz de Souza (CSALS), do município de Camaragibe, Pernambuco.

**Objetivo da Pesquisa:**

- 1- Determinar a composição da microbiota fecal de lactentes com CCF, utilizando como modelo as cepas *B. longum* e *L. acidophilus*;
- 2- Analisar o compartilhamento de microbiota fecal entre mãe e filho, utilizando como modelo as cepas *B.longum* e *L.acidophilus*;
- 3- Avaliar a interação entre a microbiota fecal de lactentes com a microbiota fecal de suas mães e a ingestão de fibras alimentares solúveis no desenvolvimento de CCF.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos são mínimos, talvez constrangimento, uma vez que consistirá na entrega do pote contendo material fecal e em entrevista com preenchimento de questionário já validado.

Os benefícios estão bem delineados no projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido.

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

**Bairro:** Cidade Universitária

**CEP:** 50.740-600

**UF:** PE

**Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588

**Fax:** (81)2126-8588

**E-mail:** cepccs@ufpe.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
PERNAMBUCO CENTRO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A Constipação crônica funcional tem prevalência significativa em lactentes. Crianças com Constipação crônica funcional apresentam a microbiota inadequada, processo que pode ter origem na microbiota materna. Estudos mostram que mãe e filho compartilham a microbiota fecal devido aos processos de verticalização de micro-organismos, por estarem inseridos no mesmo ambiente e possuírem uma alimentação em comum. O estudo será formado por dois grupos (total de 120 voluntários), os quais serão recrutados no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas e no Centro de Saúde Antônio Luiz de Souza, do município de Camaragibe, Pernambuco. O grupo caso será composto por lactentes com Constipação crônica funcional, na faixa etária de 6 meses a 2 anos de idade. O grupo controle será formado por lactentes, sem Constipação crônica funcional, na mesma faixa etária. Após inclusão da criança no estudo, serão aplicados questionários com perguntas sobre tipo de parto, aleitamento, condição socioeconômica, utilização de antibióticos e probióticos, além da realização de recordatório de 24 horas e questionário de frequência alimentar para a determinação da quantidade de fibras alimentares solúveis ingeridas e avaliação nutricional. Em seguida a mãe será orientada para realizar a coleta de fezes, tanto sua como da criança. As amostras de fezes serão submetidas à análise da microbiota fecal por Reação em cadeia da polimerase em tempo real. Espera-se como resultado observar compartilhamento da microbiota fecal de lactentes com suas respectivas mães, em ambos os grupos. Os lactentes do grupo caso apresentarão menor número de *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus* em sua microbiota fecal e menor ingestão de fibras solúveis quando comparados ao grupo controle.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todas as cartas de anuênciia, termo de consentimento livre esclarecido, bem como os termos de sigilo e confidencialidade estão devidamente anexados ao processo.

**Recomendações:**

nenhuma

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

nenhuma

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado aprova o parecer do protocolo em questão e o pesquisador está autorizado para

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

**UF:** PE **Município:** RECIFE

**Telefone:** (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-8588

**E-mail:** cepccs@ufpe.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
PERNAMBUCO CENTRO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



iniciar a coleta de dados.

Projeto foi avaliado e sua APROVAÇÃO definitiva será dada, por meio de ofício impresso, após a entrega do relatório final ao Comitê de Ética em Pesquisa/UFPE.

RECIFE, 07 de Dezembro de 2012

---

Assinador por:  
**GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO**  
(Coordenador)