



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

JÚLLIA SANTOS DE SOUZA

**MICROBIOTA FECAL E DIETA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES
PORTADORES DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

RECIFE

2018

JÚLLIA SANTOS DE SOUZA

**MICROBIOTA FECAL E DIETA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES
PORTADORES DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

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

Área de concentração: Abordagens quantitativas em saúde

Orientadora: Prof^ª Dra. Kátia Galeão Brandt

Co-orientadora: Prof^ª Dra. Poliana Coelho Cabral

RECIFE

2018

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa- CRB4-1010

S729m Souza, Júlia Santos de.
Microbiota fecal e dieta de crianças e adolescentes portadores de doença
inflamatória intestinal / Júlia Santos de Souza. – 2018.
81 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Kátia Galeão Brandt.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Recife,
2018.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Microbiota gastrointestinal. 2. Doenças inflamatórias intestinais. 3.
Criança. 4. Adolescente. 5. Consumo alimentar. I. Brandt, Kátia Galeão
(Orientadora). II. Título.

618.92 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2018-279)

JÚLLIA SANTOS DE SOUZA

**MICROBIOTA FECAL E DIETA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES
PORTADORES DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

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

Dissertação aprovada em: 07/06/2018

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Gisélia Alves P. da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^a. Dr^a. Poliana Coelho Cabral (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^o. Dr. Fabrício Oliveira Souto (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (CAA)

A Deus, aos meus pais Breno Lázaro (*in memorian*) e Andréa Santos, ao meu marido Danilo Galvão e aos meus irmãos Fernando Lázaro e Marcela Santos, que foram os maiores incentivadores dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial aos meus amados pais, Breno Lázaro de Souza (*in memorian*) e Andréa Santos de Souza, ao meu marido, Danilo Galvão de Oliveira e meus irmãos, pelo apoio nesta caminhada, por acreditarem na minha capacidade e me estimularem a seguir em frente.

A minha orientadora, professora Dra. Kátia Galeão Brandt, por toda paciência comigo e dedicação a este trabalho. Agradeço a Deus por todos os momentos de grandes aprendizados que tive com ela. Agradeço também a minha co-orientadora Dra. Poliana Cabral pelos ensinamentos e apoio dado no início desta dissertação, muitas vezes me acalentando e sempre se dispondo a me ajudar.

Aos funcionários do LIKA, especialmente a Dr. Fabrício e ao seu bolsista Daniel, que por tantas vezes perderam dias inteiros me auxiliando nas análises. E ao laboratório do IMIP, em especial à Marina, que chegou a ir dia de sábado para realizarmos as análises tranquilamente, sempre me ensinando e me mostrando o que tinha que ser feito.

Ao serviço de gastropediatria do IMIP, principalmente a Dra. Michela Marmo, Dra. Paloma e suas residentes, por sempre estarem dispostas a me ajudar e a me ensinar um pouco mais sobre a doença. Agradeço, especialmente, aos pacientes e cuidadores que sempre me acolheram com um sorriso no rosto e se dispuseram a participar da pesquisa.

Aos docentes e colegas de turma do Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, por todos os momentos de discussão e aprendizado em sala de aula, em especial Paola e Anália.

Aos membros da banca, Gisélia Alves e Margarida, que não estão hoje, mas acompanharam o projeto nos seus primeiros passos, por estarem conosco desde a qualificação do pré-projeto, corrigindo e dando sugestões excelentes para o aprimoramento do trabalho. Ambas são pessoas que admiro muito e as tenho como exemplo de profissionais.

RESUMO

Para o desenvolvimento da doença inflamatória intestinal (DII) é preciso que existam fatores genéticos e desencadeantes ambientais ainda não totalmente conhecidos. Estudos demonstram que o desequilíbrio da microbiota intestinal e o padrão de consumo alimentar têm papel importante no curso da doença. Pouco se sabe sobre as particularidades da microbiota de crianças e adolescentes com DII, principalmente em países mais pobres; assim como, sobre o padrão alimentar de crianças com DII. Desta forma, o presente estudo foi realizado com o objetivo de analisar a microbiota fecal através da quantificação de bactérias patobiontes ou comensais e avaliar a frequência de consumo de grupos alimentares considerados de risco ou de proteção para saúde intestinal de crianças com e sem DII. Foi realizado um estudo tipo série de casos, com grupo controle, em crianças e adolescentes diagnosticados com DII (casos) e dois grupos de controles saudáveis, divididos pela condição ambiental, em precárias e adequadas condições ambientais. A pesquisa foi realizada no período de janeiro a julho de 2017, os casos foram recrutados em um hospital de referência para tratamento da DII pediátrica, o Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). E para análise da microbiota os controles foram divididos quanto à exposição ambiental em que viviam, em adequadas condições ambientais e precárias condições ambientais, que se assemelhavam às condições que os casos estavam expostos. Amostras fecais foram analisadas através de reações de PCR em Tempo Real (RT-PCR) para quantificação das bactérias patobiontes (*Escherichia coli* enteroinvasiva e aderente-invasiva) e das bactérias comensais (*Faecalibacterium prausnitzii* e *Bifidobacterium*). Foi utilizada uma adaptação de dois questionários de frequência alimentar validados para crianças e adolescentes no estado de São Paulo, os alimentos foram divididos em grupos, o grupo I foi formado por alimentos considerados protetores da microbiota intestinal e o grupo II, por alimentos de risco para a microbiota. As análises estatísticas foram realizadas pelo *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para Windows versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA), significância de $p < 0,05$. A microbiota fecal dos casos e dos controles não apresentou diferença estatística na quantificação de *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* aderente-invasiva e *Bifidobacterium*. Os casos e os controles de precária condição ambiental apresentaram maior expressão de *Faecalibacterium prausnitzii* do que os controles com adequada condição ambiental, tendo sido esta diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Os dois grupos controles apresentaram maior consumo de alimentos do grupo II ($p < 0,05$). Ao associar o consumo com a quantificação das bactérias, nos casos e controles que apresentaram consumo elevado de alimentos do grupo II houve menor expressão de *Bifidobacterium* ($p < 0,05$). Conclui-se que ao analisar a microbiota fecal da população do estudo não houve diferenças significantes entre crianças e adolescentes com DII e os controles em relação às bactérias estudadas, exceto na quantificação de *F. prausnitzii*, sendo esta mais elevada entre os casos. Além disso, constatou-se que os controles apresentaram maior consumo de alimentos considerados de risco para a saúde da microbiota.

Palavras-chave: Microbiota Gastrointestinal. Doenças Inflamatórias Intestinais. Criança. Adolescente. Consumo alimentar.

ABSTRACT

There must be genetic factors and environmental triggers not yet fully known for the development of inflammatory bowel disease (IBD). Studies have shown that intestinal microbiota imbalance and food consumption pattern play an important role in the course of the disease. Little is known about the microbiota peculiarities in children and teenagers with IBD, especially in poorer countries; as well as about food consumption pattern of children with IBD. Thus, the present study was done with the objective of analyzing the fecal microbiota by quantifying pathobiont or commensal bacteria and evaluating the frequency of consumption of food groups considered as risky or protecting for intestinal health of children with and without IBD. A case series study was performed on children and teenagers diagnosed with IBD (cases) and two groups of healthy controls, divided by the environmental condition, into precarious and adequate environmental conditions. The research was conducted from January to July 2017, the cases were recruited at a referral hospital for pediatric IBD treatment, Institute of Integrated Medicine Professor Fernando Figueira (IMIP). And for the microbiota analysis the controls were divided as to the environmental exposure in which they lived, into adequate environmental conditions and precarious environmental conditions, which resembled the conditions to which the cases were exposed. Fecal samples were analyzed by real-time PCR (RT-PCR) reactions for quantification of pathogenic bacteria (enteroinvasive and adherent-invasive *Escherichia coli*) and commensal bacteria (*Faecalibacterium prausnitzii* and *Bifidobacterium*). An adaptation of two validated food frequency questionnaires was used for children and teenagers in the state of São Paulo, the foods were divided into groups, group I was formed by foods considered as intestinal microbiota protectors and group II, by risky foods for the microbiota. Statistical analyzes were performed by the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software for Windows version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), significance of $p < 0.05$. The fecal microbiota of the cases and controls did not present statistical difference in the quantification of enteroinvasive *E. coli*, adherent-invasive *E. coli* and *Bifidobacterium*. Cases and controls of precarious environmental conditions presented a higher *Faecalibacterium prausnitzii* expression than controls with adequate environmental condition, and this difference was statistically significant ($p < 0.05$). The two control groups presented higher food consumption from group II ($p < 0.05$). When the consumption was associated with the quantification of the bacteria, in the cases and controls that presented high food consumption from group II, there was a lower *Bifidobacterium* expression ($p < 0.05$). It is concluded that when analyzing fecal microbiota of the study population, there were no significant differences between children and teenagers with IBD and the controls in relation to the studied bacteria, except for the *F. prausnitzii* quantification, which is higher among the cases. Furthermore, it was verified that the controls presented greater food consumption considered of risk to the health of the microbiota.

Keywords: Gastrointestinal Microbiota. Inflammatory Bowel Diseases. Child. Teenager. Food consumption.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Avaliação da quantificação de bactérias em amostras fecais de crianças e adolescentes.....	46
Tabela 1 - Resumo de estudos sobre a microbiota intestinal em adultos e crianças com DII.....	21
Tabela 2 - Caracterização sociodemográfica e clínica de crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal.....	41
Tabela 3 - Classificação do estado nutricional de crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal.....	42
Tabela 4 - Classificação do resultado da bioimpedância de crianças e adolescentes com doença inflamatória intestinal	43
Tabela 5 - Classificação do consumo de alimentos considerados de risco e protetores	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/I	Altura/idade
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGCR	Ácidos graxos de cadeia ramificada
AGPIs	Ácidos graxos poli-insaturados
AGT	Ácidos graxos <i>trans</i>
AIEC	<i>Escherichia coli</i> aderente-invasiva
AR	Amido resistente
BIA	Bioimpedância elétrica
CMC	Carboximetil celulose
DC	Doeça de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
ESPEN	<i>European Society for Clinical Nutrition and Metabolism</i>
FC	Frequência de consumo
FDA	<i>Food Drug Administration</i>
FODMAP	Oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e poliois fermentáveis
IEC	Células epiteliais intestinais
IMC	Índice de massa corporal
IMC/I	Índice de massa corporal/idade
IMIP	Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami
MAP	<i>Mycobacterium avium subspécies paratuberculosis</i>
MDX	Maltodextrina
NOD	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain</i>
PCR	Reação em cadeia polimerase
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
R24h	Recordatório de 24h
RCU	Retocolite Ulcerativa
RNAr	Ácido ribonucleico ribossomal
SCD	Dieta de carboidrato específico
SPSS	<i>Software Statistical Package for the sócia sciences</i>

TLR

Toll-like receptor

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	INTRODUÇÃO	15
2.2	DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL NA INFÂNCIA E SUA RELAÇÃO COM A MICROBIOTA.....	16
2.3	FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA	22
2.4	ALIMENTAÇÃO E SUA RELAÇÃO COM A DII E COM MICROBIOTA	23
2.5	MÉTODOS PARA O ESTUDO DA MICROBIOTA, DO CONSUMO ALIMENTAR E DO ESTADO NUTRICIONAL.....	27
2.5.1	Análise laboratorial da microbiota intestinal	27
2.5.2	Métodos para avaliação de consumo alimentar	27
3	MÉTODOS	31
3.1	LOCAL E PERÍODO.....	31
3.2	DESENHO DO ESTUDO.....	31
3.3	SUJEITOS DO ESTUDO.....	32
3.3.1	Critérios de inclusão.....	32
3.3.2	Critérios de exclusão.....	32
3.4	VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	32
3.5	OPERACIONALIZAÇÃO.....	33
3.5.1	Métodos laboratoriais.....	34
3.5.1.1	<i>Extração do DNA.....</i>	34
3.5.2	Questionário de frequência alimentar.....	35
3.5.3	Antropometria.....	36
3.5.4	Bioimpedância elétrica.....	37
3.6	ASPECTOS ÉTICOS.....	37
3.7	LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS.....	38

3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
4	RESULTADOS	40
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO.....	54
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
	REFERÊNCIAS	56
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	72
	APÊNDICE B – FORMULÁRIO ESTRUTURADO	75
	ANEXO A – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR DE CRIANÇAS DE 2 A 5 ANOS	79
	ANEXO B – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR ADOLESCENTES	80

1 APRESENTAÇÃO

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma inflamação crônica do intestino, com etiologia não totalmente esclarecida. Sabe-se que existe um componente genético e uma resposta imune desregulada a antígenos presentes na luz intestinal, incluindo a microbiota intestinal (FADERL et al., 2015).

A composição da microbiota intestinal de cada indivíduo pode ser influenciada por fatores genéticos (KAISTHA; LEVINE, 2014) e ambientais (GRZEŚKOWIAK et al., 2012; BHUTE et al., 2016; YATSUNENKO et al., 2012;). Dentre os fatores ambientais, destaca-se os hábitos alimentares, que vêm sofrendo mudanças associadas à vida moderna, caracterizando-se pelo maior consumo de alimentos gordurosos e menor ingestão de fibra, dieta dita do tipo “ocidental”. Estudos sugerem que tais mudanças são capazes de modificar a composição da microbiota (DAVID et al., 2014; HOU; ABRAHAM; EL-SERAG, 2011) favorecendo o crescimento de bactérias com possível efeito patogênico (GRZEŚKOWIAK et al., 2012; HOLMES et al., 2012) e levando a uma inflamação intestinal (SEPULVEDA et al., 2015; URANGA et al., 2016).

Para que o indivíduo desenvolva a DII é necessário o fator genético, mas estudos indicam que portadores de DII apresentam alterações na composição da microbiota, caracterizado por um aumento de bactérias patobiontes, com atividades pró-inflamatórias (GERSEMANN; WEHKAMP; STANGE, 2012; SHA et al., 2013; SWIDSINSKI et al., 2008a), e redução de bactérias comensais, com efeitos reguladores da resposta imunológica (MIQUEL et al., 2013; SHA et al., 2013). Em condições saudáveis, a composição harmônica da microbiota gera uma resposta imune equilibrada por parte do hospedeiro, neste caso pode-se dizer que existe uma eubiose. Já na disbiose ocorre um desequilíbrio em sua composição, capaz de quebrar a regulação do sistema imune intestinal, (MACPHERSON; HARRIS, 2004) e favorecer doenças intestinais como DII (KOVATCHEVA-DATCHARY et al., 2009; THOMPSON-CHAGOYÁN; MALDONADO; GIL, 2007). Embora a composição da microbiota de indivíduos com DII venha sendo estudada em países desenvolvidos, pouco se sabe sobre a mesma em países em desenvolvimento.

Em vista da importância dos aspectos destacados e das lacunas no conhecimento, o presente estudo foi realizado objetivando avaliar a quantidade de bactérias patobiontes e comensais, e a frequência de consumo de grupos alimentares considerados de proteção e de risco para a saúde da microbiota intestinal em crianças e adolescentes com DII, residentes no

nordeste do Brasil. Como objetivo secundário esta pesquisa pretendeu analisar o estado nutricional das crianças e adolescentes com DII.

A seguir serão apresentadas as seções de revisão da literatura, métodos, resultados, discussão, conclusão e as considerações finais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INTRODUÇÃO

A DII é resultado de uma interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais, que levam a uma inflamação crônica do intestino (SCHWIERTZ et al., 2010). No trato gastrointestinal (TGI) ocorrem interações complexas entre as diferentes células da mucosa intestinal, partículas alimentares e a microbiota comensal, que seriam as bactérias que vivem no intestino humano (CLEMENTE et al., 2012; LOPETUSO et al., 2014; MANDAL; SAHA; DAS, 2015). Em condições normais, esta microbiota comensal exerce importantes funções, estimula o sistema imune local e sistêmico, atua como uma barreira de proteção, impedindo a colonização de agentes com possível ação patogênica, além de desempenhar funções metabólicas importantes (LOPETUSO et al., 2014; LOZUPONE et al., 2012; PENDERS et al., 2006). Entretanto, na DII há uma desregulação do sistema imune do intestino, havendo uma hiperresponsividade às partículas luminais e bactérias comensais, o que pode levar a uma alteração destas funções intestinais (KO; AUYEUNG, 2014).

Estudos destacam que a disbiose (desequilíbrio na composição da microbiota) pode ativar ou agravar o estado da doença, demonstrando que pacientes com DII possuem uma microbiota intestinal com perfil mais pró-inflamatório (bactérias que estimulam a atividade inflamatória do sistema imune intestinal), com maiores quantidades de bactérias do gênero *Enterobacteriaceae*, principalmente de *E. coli* (SCHWIERTZ et al., 2010; PINHO, 2008). No entanto, ainda não está claro se essas mudanças são causadoras da doença ou se são consequências das respostas inflamatórias e da destruição do tecido, que acabam transformando o ambiente intestinal (SCHWIERTZ et al., 2010).

Além da DII, outros fatores podem influenciar a microbiota intestinal, tais como: características genéticas dos indivíduos, idade, hábitos alimentares, localização geográfica, entre outros (BHUTE et al., 2016). Dentre estes, destaca-se o consumo alimentar, devido às mudanças que vêm ocorrendo no tipo de dieta consumida, como um maior consumo de proteína e gordura animal e uma menor ingestão de fibras.

Nesta revisão serão abordados aspectos da DII na infância e adolescência e sua relação com a microbiota, fatores influenciadores da disbiose na DII e a alimentação e sua possível relação com a disbiose.

2.2 DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL NA INFÂNCIA E SUA RELAÇÃO COM A MICROBIOTA

Os principais fenótipos da DII são a doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa (RCU). A DC caracteriza-se por ser uma inflamação transmural, granulomatosa e cicatrizante, que pode afetar qualquer parte do TGI, desde a boca até o ânus, podendo ocorrer de forma descontínua (BRADLEY; HINOJOSA, 2012; COSKUN, 2014; KO; AUYEUNG, 2014). A RCU se restringe às camadas da mucosa e submucosa do intestino grosso, iniciando no reto e progredindo de forma proximal em um padrão contínuo, comprometendo parte ou todo o cólon (COSKUN, 2014; KO; AUYEUNG, 2014).

A DII alterna entre períodos de atividade clínica e remissão. Durante os períodos de atividade clínica são observados sintomas, sendo a diarreia e a dor abdominal os mais frequentes (COSKUN, 2014; KO; AUYEUNG, 2014). Os pacientes com DC apresentam, com maior frequência que os com RCU, comprometimento nutricional devido ao acometimento do intestino delgado, órgão responsável pela absorção intestinal (MONSTAD et al., 2014).

A maioria das crianças com DII é diagnosticada entre 11 e 16 anos de idade, mas os relatos de crianças diagnosticadas com idade inferior a 10 anos parecem estar aumentando (ADAMIAK et al., 2013; BENCHIMOL et al., 2014; FADDA et al., 2012; GOWER-ROUSSEAU et al., 2013).

Na DII ocorre uma resposta imune exacerbada a componentes antigênicos presentes na luz intestinal, sendo eles a própria microbiota intestinal e partículas alimentares, em um hospedeiro geneticamente suscetível (AUYEUNG, 2014; COSKUN, 2014; FADERL et al., 2015; KO et al. 2014).

O sistema imunitário constitui o principal mediador da patogênese da DII e da sua evolução clínica (KAISTHA; LEVINE, 2014). Nesta doença há uma desregulação da tolerância à microbiota intestinal, existindo uma resposta exagerada das células T, que levam a uma hiperresponsividade. A ativação de populações de células imunitárias locais é acompanhada, então, pela produção de uma grande variedade de mediadores inespecíficos de inflamação, havendo uma falha da regulação negativa da resposta imune (KO; AUYEUNG, 2014).

As bactérias desempenham um papel importante no surgimento e na atividade da DII (PINHO, 2008). A microbiota intestinal em desenvolvimento, no início da vida, interage com o hospedeiro, resultando em um equilíbrio entre microbiota e o sistema imune da mucosa. O

sistema imune da mucosa intestinal tem o desafio de discriminar os microrganismos entre patogênicos e comensais, e ser capaz de estimular a imunidade protetora sem gerar resposta inflamatória excessiva que possa danificar a integridade da mucosa gastrointestinal (GUPTA; GARG, 2009).

Sugere-se que na DII ocorre uma disbiose, caracterizada por uma diminuição de espécies com potencial comensal, que teriam funções benéficas ao intestino, sendo capazes de produzir metabólitos, como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) os quais são a principal fonte de energia dos enterócitos. Estes indivíduos podem ter ainda aumento de bactérias patobiontes, que poderiam trazer malefícios à saúde intestinal, devido à maior produção de substâncias pró-inflamatórias durante seu metabolismo (GERSEMANN; WEHKAMP; STANGE, 2012).

Estudos em adultos demonstraram que a microbiota de indivíduos com DII, especialmente naqueles com a forma ativa da doença, apresentava menores quantidades de bactérias comensais, como *Bifidobacterium* (SHA et al., 2013; SWIDSINSKI et al, 2008a) e *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) (MIQUEL et al., 2013; SHA et al., 2013) e quantidades elevadas de bactérias patobiontes, como a *Escherichia coli* (*E. coli*) (HOLD et al., 2014).

Na população pediátrica, os estudos ainda são escassos. Em estudo realizado na Alemanha, com 69 crianças e adolescentes portadores de DII com idade de 1 a 20 anos, Schwartz et al. (2010) demonstraram que pacientes com RCU em atividade e DC em fase de atividade e remissão apresentaram uma menor contagem de *Bifidobacterium*. Este estudo não encontrou diferenças significativas em pacientes com RCU em remissão. Mas nos portadores de DC houve uma maior contagem de *Bacteroides* e redução do filo *Firmicutes*, especificamente da classe *Clostridium* e da espécie *F. prausnitzii* (SCHWARTZ et al., 2010).

Outra pesquisa realizada na Austrália com crianças com DC e média de idade de 11,6 anos ($\pm 2,5$) detectou que houve uma redução das espécies *Roseburia faecis* e *Coprococcus eutactus* e um aumento das *Fusobacterium equinum*, *Fusobacterium canifelinum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum* e *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, e *Escherichia albertii*. (KAAKOUSH et al., 2012)

Nos Estados Unidos da América, um estudo comparou biópsias do íleo terminal e do reto de 447 crianças e adolescentes (<17 anos) com DC recém-diagnosticados com a de 221 indivíduos sem condições inflamatórias do TGI, e demonstrou maior abundância em bactérias das famílias *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae* e *Fusobacteriaceae*, e

diminuição da quantidade de *Erysipelotrichales*, *Bacteroidales* e *Clostridiales* (GEVERS et al., 2014).

Diversos estudos demonstram baixo nível de *F. prausnitzii* na mucosa ileal de pacientes com DC e RCU (MONDOT et al., 2011; QUÉVRAIN et al., 2015; SCHWIERTZ et al., 2010), (WATTERLOT et al., 2008). Autores detectaram que o baixo nível desta espécie nas fezes era preditivo de recidiva em pacientes com DC em remissão (QUÉVRAIN et al., 2015). A espécie *F. prausnitzii* é capaz de produzir uma proteína única e original, chamada molécula anti-inflamatória microbiana (MAM), que está envolvida no efeito anti-inflamatório (QUÉVRAIN et al., 2015). Um estudo de metanálise encontrou que a contagem fecal de *F. prausnitzii* em pacientes com DII foi menor do que em controles saudáveis (QUÉVRAIN et al., 2015).

Foram propostas teorias para este possível efeito protetor de *F. prausnitzii* contra a DII (CAO; SHEN; RAN, 2014). Além da produção da MAM, a *F. prausnitzii* tem como produto de sua fermentação o butirato, que desempenha um papel importante na fisiologia intestinal: proteção contra invasão de patógenos e modulação do sistema imunológico (MACFARLANE; MACFARLANE, 2011). Adicionalmente, o butirato pode inibir a resposta inflamatória através da inibição da atividade da histona desacetilase, resultando na supressão da actividade de NF- κ B e hiperacetilação das histonas (BORRUEL et al., 2013). Além disso, a *F. prausnitzii* pode induzir quantidades relativamente baixas de IL-12 e grandes quantidades de IL-10 e células T regulatórias (Tregs), podendo minimizar a progressão da inflamação (HIMMEL et al., 2012).

Outra característica de disbiose que vem sendo amplamente discutida na literatura é o aumento de patobiontes, especialmente a *E. coli*. Esta é uma espécie predominantemente anaeróbica gram-negativa da microbiota intestinal normal, na qual desempenha papel importante na promoção da estabilidade microbiana luminal e na manutenção da homeostase intestinal normal. As cepas de *E. coli* comensais raramente causam doença, exceto em hospedeiros imunocomprometidos ou quando as barreiras gastrointestinais normais são violadas (DARFEUILLE-MICHAUD; COLOMBEL, 2008).

No entanto, algumas cepas de *E. coli* adquiriram fatores de virulência específicos, que aumentam as habilidades das bactérias para se adaptarem a novos nichos e causar um amplo espectro de doenças. Entre as cepas de *E. coli* causadoras de doença intestinal em humanos, existem pelo menos seis classes ou patótipos bem caracterizados: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxinogênica (ETEC), *E. coli* enteroagrativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC) e *E. coli* aderente-invasiva (AIEC)

(DARFEUILLE-MICHAUD; COLOMBEL, 2008). Sendo estas duas últimas associadas à DII, principalmente à DC (LOPEZ-SILES et al., 2014; REHMAN et al., 2010)

Estudos de base molecular e baseados em cultura apoiam a hipótese de que *E. coli* é um fator microbiológico implicado na DC, mas existe alguma controvérsia em relação ao seu papel na RCU (LOPEZ-SILES et al., 2014; REHMAN et al., 2010; WILLING et al., 2009). Pesquisas baseadas na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) indicaram que a *E. coli* é aumentada em pacientes com DC quando comparados a indivíduos saudáveis (LOPEZ-SILES et al., 2014; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009). Sendo este aumento de *E. coli* mais observado em pacientes com a doença ativa do que em remissão (LOPEZ-SILES et al., 2014; SCHWIERTZ et al., 2010).

A AIEC e EIEC são consideradas patobiontes, pois apesar de serem mais encontradas em pacientes com DC, indivíduos saudáveis também possuem estas cepas em sua mucosa intestinal. Mas em indivíduos saudáveis estas cepas não têm capacidade de atravessar a barreira de mucosa (DARFEUILLE-MICHAUD et al., 2004; DOGAN et al., 2013; HORNEF et al., 2015; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009).

Pacientes com DII têm condições intestinais que facilitam o crescimento e a invasão da AIEC, como imunidade da mucosa alterada e disfunção da barreira intestinal, causadas pela inflamação (ELLINGHAUS et al., 2012; ELLIOTT et al., 2013; RASO et al., 2011). Esta cepa possui a capacidade de aderir e invadir as células epiteliais intestinais, bem como de se replicar dentro de macrófagos, apresentando alta variabilidade genética, sendo estes genomas capazes de matar bactérias adjacentes ou agir sobre as células do hospedeiro, facilitando a sua sobrevivência intracelular (NASH et al., 2010; MIGUEL et al., 2010; ZHANG; LI, 2014).

Na última década, estudos laboratoriais vêm demonstrando uma maior abundância de AIEC em pacientes com DC em relação a indivíduos saudáveis (BAUMGART et al., 2007; DOGAN et al., 2013; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009; SASAKI et al., 2007). O primeiro estudo foi conduzido por Darfeuille-Michaud et al. (2004) demonstrando que 22% dos pacientes com DC ileal abrigavam cepas de AIEC em lesões crônicas do íleo e com frequência semelhante em mucosa saudável. No entanto, as bactérias AIEC foram mais prováveis de serem encontradas nas lesões ileais em pacientes após ileostomia (36,4%). Já Baumgart et al (2007) encontraram uma prevalência maior de cepas de AIEC na DC, independente se era ileal ou não. Outros estudos que analisaram a mucosa ileal de pacientes com DC também demonstraram maiores expressões de AIEC em pacientes com DC do que em controles saudáveis (KOTLOWSKI, R.; BERNSTEIN; SEPEHRI et al., 2011; PROROK-HAMON et al., 2014). Em estudo com 616 crianças (2 a 16 anos) portadoras de DC ativa a

partir de biópsia intestinal demonstrou-se que os pacientes com DC possuíam maior abundância de AIEC do que controles saudáveis (CONTE et al., 2014).

Na RCU trabalhos são controversos, alguns relatam que não há diferença na abundância de AIEC (LOPEZ-SILES et al., 2014; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009; WILLING et al., 2009), mas outros demonstram que esta bactéria pode ter papel putativo na RCU, estando aumentada em pacientes com RCU de maior gravidade e em atividade da doença (PILARCZYK-ZUREK et al., 2013; SHA et al., 2013).

Outro tipo de *E. coli* que vem sendo associado à DC é a *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), esta apresenta mecanismos semelhantes ao da AIEC para invadir as células intestinais, mas possui genes de virulência diferentes da AIEC (SANTOS et al., 2015). Sendo esta encontrada em maiores quantidades em pacientes com DC (LOPEZ-SILES et al., 2014; KOTLOWSKI, R.; BERNSTEIN; SEPEHRI et al., 2011; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009). A tabela 1 mostra os estudos sobre a microbiota realizados em pacientes com DII.

Devido à importância da microbiota intestinal no estado de saúde-doença do hospedeiro, vários estudos procuram estabelecer os fatores que influenciariam a composição desta de forma benéfica ou maléfica.

Tabela 1. Resumo de estudos sobre a microbiota intestinal em adultos e crianças com DII.

Autor	Revista/A	Local	Métodos	Grupo de	Fenótipo	Resultados
MONDOT et al.	Inflammatory Bowel Diseases, v. 17, n. 1, 2011	França	Estudos moléculares de laboratório Reação em cadeia polimerase (PCR) em <i>real time</i>	Casos: 24 indivíduos com DC Controle: 30 indivíduos saudáveis	DC	<u>Espécie:</u> Redução <i>F. prausnitzii</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , Aumento de <i>E. coli</i> <i>Enterobacter cowanii</i> ,
SHA et al.	Diagn Microbiol Infect Dis, v. 75, 2013	China	Coleta de fezes e foi feita análise por <i>Real-time</i> Q-PCR e PCR com eletroforese em gel com gradiente desnatante – (DGGE)	Casos: 36 adultos DII Controle: 14 indivíduos saudáveis pareados	DC e RCU	<u>Gêneros:</u> Redução <i>Bifidobactérias</i> Aumento <i>Enterococcus</i> (não houve alterações na RCU em remissão)
KAAKOUSH et al.	J Clin Microbiol, v. 50, n. 10, 2012	Sidney, Austrália	Coleta de fezes para extração do DNA e a técnica foi Real-time qPCR	Casos: 19 crianças com DC ileal Controles: 21 Crianças	DC	<u>Espécies:</u> Aumento de <i>E. coli</i>
SCHWERTZ et al.	The Journal of Pediatrics, v. 157, n. 2, 2010	Herborn, Alemanha	Coleta de fezes. Análise de sondas utilizadas para a fluorescência em análise de hibridação in situ (FISH). Em seguida, foi feito Real-time qPCR	Casos: 69 pacientes com DII (idade, 1-20) Controles: 24 controles saudáveis	RCU e DC	RCU e DC: <u>Gênero:</u> Redução <i>Bifidobactérias</i> DC: <u>Espécie:</u> Redução <i>F. prausnitzii</i> <u>Filo:</u> Redução <i>Firmicutes</i> (não houve alterações na RCU em remissão)

2.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA

Existem fatores que interferem desde o início da vida na composição da microbiota intestinal. Mudanças na população bacteriana intestinal ocorrem ao longo do tempo, e dependem de vários fatores, destacando-se a genética, a dieta consumida regularmente, uso de antibióticos e a contaminação ambiental (KASHTANOVA et al., 2016; YATSUNENKO et al., 2012). Estudos mostram que gêmeos monozigóticos possuem semelhanças na composição da microbiota (KAISTHA; LEVINE, 2014), assim como gêmeos dizigóticos e mesmo mães e filhos (YATSUNENKO et al., 2012).

Ao longo dos anos, a microbiota intestinal sofre alterações, as mudanças mais bruscas da microbiota ocorrem no início da vida, atingindo uma estabilidade nos dois primeiros anos de idade (KOENIG et al., 2010; PALMER et al., 2007; YATSUNENKO et al., 2012). A microbiota nos dois primeiros anos de vida é relativamente instável, ocorrendo uma maior variação de comunidades microbianas (LOZUPONE et al., 2012). Estudo evidenciou uma menor quantidade de *Bifidobacterias* e uma maior diversidade bacteriana com o aumento da idade (YATSUNENKO et al., 2012). Estudos demonstram que crianças com DII apresentam alterações da composição da microbiota desde uma idade jovem, principalmente em pacientes com DC (SCHWIERTZ et al., 2010).

Outro fator que pode influenciar a composição da microbiota intestinal é o uso de antibióticos. Embora os antibióticos tenham o intuito de combater patógenos bacterianos, muitas vezes também atacam a microbiota humana comensal, permitindo a propagação de patógenos e membros oportunistas da comunidade bacteriana (GORKIEWICZ, 2009). O tratamento com antibióticos pode reduzir a diversidade e desregular o sistema imune do hospedeiro, com uma diminuição da resistência à colonização por patógenos (JERNBERG et al., 2010; VOGT; PEÑA-DÍAZ; FINLAY, 2015).

Pessoas tratadas com antibióticos têm mais chances de desenvolver infecção por *Clostridium difficile*, e os pacientes com DII apresentam risco ainda maior, devido à inflamação que modifica a mucosa intestinal (HASHASH; BINION, 2014; NITZAN et al., 2013). Os antibióticos podem, ainda, induzir a DII, alterando a microbiota intestinal, através de um efeito de rebote nas bactérias intestinais após cessação terapêutica (NITZAN et al., 2016). Como demonstrado em um estudo com 20 indivíduos portadores de DII, que encontrou um aumento nas concentrações de bactérias patobiontes da mucosa uma semana após a cessação da terapia com antibióticos (SWIDSINSKI et al., 2008b).

O saneamento, higiene e o clima também podem interferir na composição da microbiota (GRZEŚKOWIAK et al., 2012). Em países onde o saneamento é ineficaz e escasso, as crianças de até dois anos de idade são colonizadas por potenciais agentes patogênicos, o mais frequentemente identificado em todos os locais foi *Escherichia coli* enteroagregativa, seguida de *Campylobacter* e *E. coli* enterotoxigênica (ADLERBERTH, 2009; LANG; MAL-ED, 2015).

Dentre os fatores ambientais que podem alterar a composição da microbiota, há também os hábitos alimentares, que além de terem capacidade de modular a microbiota intestinal podem ter papel na atividade da DII (KAISTHA; LEVINE, 2014). Esse fator será discutido mais profundamente no próximo tópico.

2.4 ALIMENTAÇÃO E SUA RELAÇÃO COM A DII E COM MICROBIOTA

Evidências crescentes demonstram que os hábitos alimentares a longo e a curto prazo modificam significativamente a comunidade microbiana e as funções do hospedeiro, influenciando assim o metabolismo do hospedeiro e o risco de desenvolvimento da doenças (HOLMES et al., 2012). Dependendo do resíduo que chega ao cólon, serão gerados subprodutos que terão diferentes ações sobre componentes da microbiota (HOOPER; MACPHERSON, 2010).

Mudanças na dieta têm provavelmente contribuído para este aumento da prevalência da DII (KAISTHA; LEVINE, 2014). Acredita-se que este aumento vem ocorrendo devido à propagação da dieta “ocidental”, caracterizada por um elevado consumo de açúcar refinado, carne e gordura animal e baixa ingestão de fibra (ANANTHAKRISHNAN et al., 2014; HOU; ABRAHAM; EL-SERAG, 2011). Supõe-se que este novo padrão alimentar seja capaz de alterar a composição e atividade metabólica da microbiota intestinal (DAVID et al., 2014; HOU; ABRAHAM; EL-SERAG, 2011).

Não se sabe, ainda, como ocorre a relação do nutriente com a DII, se essa relação seria direta, com as células imunes, ou de forma indireta, através dos metabólitos gerados pela microbiota. Determinados componentes alimentares são destacados na literatura como capazes de influenciar a formação da microbiota intestinal e sua relação com a DII, sendo destacados os carboidratos, as proteínas, as gorduras e os aditivos alimentares.

Os carboidratos que chegam ao intestino grosso são o amido resistente (AR) e polissacarídeos não digeríveis. Estes apresentam-se amplamente distribuídos em várias

espécies vegetais, sendo encontrados em grãos de cereais, raízes e tubérculos, arroz, trigo e frutos (RAMSAY et al., 2006; ZE et al., 2012).

Estes tipos de carboidratos demonstram resistência à digestão no intestino delgado humano, passando de forma praticamente intacta para o cólon, onde aumentam a viscosidade e o volume da matéria fecal (LATTIMER; HAUB, 2010). A microbiota converte estes componentes alimentares não digeríveis, em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que favorecem o crescimento das células intestinais, geram energia e auxiliam no desenvolvimento imunológico saudável (CHU; AAGAARD, 2016).

Os AGCC fornecem até 85% das necessidades energéticas das células epiteliais do cólon (CULTRONE et al., 2015) e parecem estimular a criação de células Treg, que são importantes no estabelecimento e manutenção da tolerância imunológica (CLEMENTS; CARDING, 2016). Estes são capazes, ainda, de inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas, incluindo *Enterobacteriaceae*, como a *E. coli* (DUNCAN et al., 2009). Os AGCC diminuem o pH do cólon, aumentam a atividade motora e alteram a permeabilidade intestinal, diminuindo a inflamação em pacientes com DII (FUNG et al., 2012; KASHTANOVA et al., 2016).

Estudo mostrou a associação negativa entre a ingestão de fibra, frutas e vegetais e o risco de desenvolver RCU e DC (JAKOBSEN et al., 2013). Isto pode ser explicado por esta maior produção de AGCC que estão envolvidos na manutenção da homeostase do cólon. Por conseguinte, uma dieta pobre em fibra e em AGCC pode causar uma ruptura da homeostase entre bactérias e colonócitos, conduzindo à inflamação intestinal (GALVEZ et al., 2005).

Outro tipo de carboidrato que pode ter influência na inflamação seriam os refinados. Estudos demonstraram que o maior consumo de carboidratos refinados, bebidas açucaradas, refrigerantes, sobremesas comerciais, açúcares adicionados (refinados), chocolate e/ou doces podem estar positivamente associados com o desenvolvimento de RCU e DC (JAKOBSEN et al., 2013; OCTORATOU et al., 2012; SPEHLMANN et al., 2012). Jakobsen et al. (2013) encontraram que o consumo de refrigerantes mais de quatro vezes por semana na infância aumentou o risco para início de RCU e DC.

No que concerne ao papel das proteínas na dieta, estas fazem parte de uma dieta saudável, uma vez que alguns aminoácidos não são produzidos no organismo humano, devem ser obtidos a partir da alimentação. Porém, o consumo impróprio de proteína pode resultar em diferentes perturbações (KASHTANOVA et al., 2016).

A digestão da proteína irá produzir diferentes compostos, principalmente ácidos graxos de cadeia ramificada - AGCR (isobutirato, isovalerato e 2-metilbutirato), compostos de

fenol, aminas, sulfetos e amônia (CLEMENTS; CARDING, 2016). Alguns destes metabolitos podem ter efeitos prejudiciais sobre a saúde, sendo capazes de promover a inflamação do cólon e a disbiose (CULTRONE et al., 2015). O estudo de Grześkowiak et al (2012) demonstrou que indivíduos com uma alimentação predominantemente formada por proteínas e gordura animal apresentam uma menor representatividade de *Bifidobacterias*

Outros autores associaram, ainda, uma dieta rica em proteína total e uma dieta rica em proteína animal ao maior risco de desenvolver RCU e DC (JANTCHOU et al., 2010). Ao avaliar o consumo de carne bovina, estudos associaram a elevada ingestão desta com maior risco para desenvolver a DC pediátrica (D'SOUZA et al., 2008; JAKOBSEN et al., 2013). A proteína bovina na dieta reduziu *Bifidobacterium* (MILLS et al., 2008). A proteína animal ao chegar no intestino vai ser fermentada a produtos pró-inflamatórios, o que nos pacientes com DII pode precipitar atividade da doença (JOWSET et al., 2004).

Por outro lado, sugere-se que proteínas vegetais, encontradas em algumas sementes (como chia, quinoa, grão de bico, entre outros) melhoram o equilíbrio da microbiota intestinal, aumentam o crescimento de *Lactobacilos* e *Bifidobactérias* e os níveis de AGCC (DOMINIKA et al., 2011).

Outro macronutriente que vem sendo avaliado por causar modificações na microbiota intestinal são as gorduras. As gorduras alimentares são absorvidas, principalmente, no intestino delgado, mas 7% é excretada juntamente com as fezes (GABERT et al., 2011). Os ácidos graxos que atingem o cólon são, normalmente, originados de ácidos graxos poliinsaturados (AGPIs), que são metabolizados pela microbiota para produzir isômeros de ácido linoleico conjugado (ALC).

As dietas ricas em gordura são associadas a altos níveis de *Bacteroidetes* e *Actinobacterias*, à redução de AGCC e a concentrações baixas de *Bifidobacterium* (BRINKWORTH et al., 2009), *Firmicutes* e *Proteobacterias* (WU et al., 2011). Estas dietas podem resultar, ainda, em elevados níveis de lipopolissacarídeos, endotoxemia e inflamação de baixo grau (CANI et al., 2007). As dietas ricas em gordura podem influenciar a microbiota indiretamente pela estimulação da produção de ácidos biliares. Alguns ácidos biliares ao atingir o cólon são desidroxilados pela microbiota a ácidos biliares secundários (OU et al., 2012).

Dentre estes ácidos biliares secundários, destaca-se o ácido desoxicólico (DCA). Níveis elevados de DCA podem contribuir para os distúrbios microbianos, já que este ácido biliar pode inibir o crescimento de membros dos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (SCHOCH et al., 2012), conhecidas por gerar o butirato (SIMPSON; CAMPBELL, 2015).

Outro tipo de gordura, que vem sendo cada vez mais consumida, são os ácidos graxos *trans* (AGT). Estes são isômeros estéricos dos ácidos graxos insaturados *cis* (OKADA et al., 2013). Os AGT são gerados durante o processo de óleos vegetais hidrogenados, que têm sido um dos principais contribuintes para a ingestão de AGT produzidos industrialmente. A dieta moderna consiste principalmente de produtos de padaria (por exemplo, bolos, biscoitos, tortas), alimentos fritos e congelados (por exemplo, batatas fritas, frango à milanesa e peixes), e snacks embalados (por exemplo, pipoca de micro-ondas), contendo uma quantidade elevada de AGT (MOZAFFARIAN et al., 2006). Estes ácidos contribuem para a inflamação do intestino, podendo alterar o curso da DII (OKADA et al., 2013).

Além destes nutrientes, alguns compostos produzidos pelas indústrias alimentares também são capazes de alterar a microbiota intestinal. Estudos recentes indicam que vários aditivos alimentares, tais como maltodextrina (MDX), agentes emulsificantes ou agentes espessantes, tais como carboximetil celulose (CMC), a carragenina e goma xantana, podem ter efeitos prejudiciais sobre a homeostase intestinal (RUEMMELE, 2016).

A MDX é um polímero de glicose que contém entre 3-20 unidades de glicose. O comprimento destes polímeros é definido por equivalente de dextrose, com cadeias mais longas com mais baixos valores de dextrose. A MDX é reconhecida como seguro pela *Food and Drug Administration* (FDA) e o seu consumo na ausência de outros fatores de risco, provavelmente, não é suficiente para causar doenças intestinais (NICKERSON; MCDONALD, 2012). No entanto, relatos demonstram que o consumo de MDX ou outros aditivos de polissacáridos em certas circunstâncias podem resultar em doenças intestinais, como a DC (BEAL et al., 2012; SWIDSINSKI et al., 2009; THYMANN et al., 2009).

Experiências *in vitro* com MDX revelaram que os macrófagos e as células epiteliais apresentaram uma resposta antibacteriana deficiente quando o meio de cultura possui a MDX, havendo um aumento da viabilidade de crescimento de bactérias patobiontes (NICKERSON et al., 2014). Estudo detectou que a formação e a adesão da estirpe *E. coli* foi notavelmente aumentada em meio contendo MDX, indicando que a MDX pode levar a DC associada a estirpe de *E. coli*. A MDX, independentemente do tamanho da sua cadeia, promove a formação de biofilme de várias estirpes de *E. coli*, num processo de metabolismo dependente MDX (NICKERSON; MCDONALD, 2012).

A MDX tem sido cada vez mais utilizada como espessante, texturizante ou agente de revestimento, e atualmente mais de dois terços dos produtos alimentares embalados contêm MDX ou "amido modificado" (RUEMMELE, 2016). Alguns produtos que contêm MDX são os adoçantes não-calóricos (como Splenda® e Equal®), salgadinhos, cereais matinais, molhos

para salada, suplementos de fibras, entre outros (NICKERSON; MCDONALD, 2012). Em paralelo ao aumento da utilização destes produtos, vem ocorrendo o aumento da incidência de DII (RUEMMELE, 2016).

Outros aditivos alimentares, tais como emulsificantes ou espessantes, que são usados para estabilizar alimentos preparados ou para modificar/melhorar a textura e viscosidade do produto, também foram mostrados para contribuir na disfunção da barreira intestinal (RUEMMELE, 2016). O consumo destes foi associado à inflamação mais agressiva (SWIDSINSKI et al., 2009). Estes emulsificantes atuam diretamente sobre a barreira mucosa, diminuindo a viscosidade do muco, facilitando a translocação bacteriana e, potencialmente, conduzindo à inflamação (SWIDSINSKI et al., 2007). Desta forma, estudos relatam que os emulsificantes podem aumentar a translocação bacteriana através da barreira (KEITA et al., 2010).

2.5 MÉTODOS PARA O ESTUDO DA MICROBIOTA, DO CONSUMO ALIMENTAR E DO ESTADO NUTRICIONAL

2.5.1 Análise laboratorial da microbiota intestinal

Existem análises que pesquisam as bactérias presentes no lúmen intestinal e outras que analisam as bactérias aderidas à mucosa. Para estudo de bactérias aderidas à mucosa utiliza-se a biópsia intestinal, que é um procedimento invasivo que retira um pequeno pedaço do intestino para análise. Por ser uma técnica invasiva, prefere-se a utilização de métodos que estudem as bactérias do lúmen intestinal.

Para se analisar a microbiota fecal do lúmen era utilizado usualmente métodos de cultura (HAYASHI et al., 2003). No entanto, esta abordagem limita a detecção de organismos àqueles que têm crescimento favorecido nas condições de cultivo de laboratório, que seriam os organismos aeróbicos. Grande progresso ocorreu com o surgimento de técnicas independentes de cultivo, baseadas em DNA na década de 80. Tendo como princípio analisar o DNA extraído diretamente de uma amostra derivada do local de interesse (HIERGEIST et al., 2015).

A análise da microbiota independente de cultura tem se baseado na sequenciação do gene RNA 16S ribossomal (rRNA). Tais métodos permitem a identificação de bactérias presentes na amostra fecal a partir de seu material genético, independentemente de serem ou não cultiváveis (TANNOCK, 2005). Em bactérias, as três moléculas de rRNA são geneticamente organizadas nos ribossomos como um único precursor de rRNA 30S, que é

subsequentemente clivado pela RNAase III em subunidades de rRNA 16S, 23S e 5S (SCHLESSINGER et al., 1974).

A organização alternada com sequências altamente conservadas e hipervariáveis do gene 16S rRNA oferece a vantagem de empregar iniciadores universais de reação em cadeia da polimerase (PCR), que correspondem a seções constantes, a fim de produzir produtos de amplificação que abrangem regiões discriminativas. Estas regiões revelam uma variabilidade interespecies e podem ser alinhadas com as sequências conhecidas no banco de dados de referência para controlar a ecologia e evolução microbiana (YARZA et al., 2014).

A amplificação do 16S rRNA tem algumas vantagens claras em comparação com os métodos dependentes de cultura, em razão de sua capacidade de fornecer informações diretas e em profundidade na composição da microbiota em uma cultura de forma independente (HIERGEIST et al., 2015).

A técnica de *real time* PCR tem sido utilizada para a quantificação de diferentes grupos filogenéticos com a utilização de iniciadores e sondas grupo-específicos. A metodologia apresenta grande sensibilidade, pois pode identificar a presença de microrganismos pré-definidos em quantidades inferiores às necessárias nas outras metodologias convencionais (ZOETENDAL; RAJILIC-STOJANOVIC; DE VOS, 2008). Este método possui a vantagem de apresentar um baixo custo, quando comparado a outras técnicas moleculares, permitindo identificar e quantificar grupos bacterianos presentes tanto nas fezes como nos tecidos intestinais. No entanto, como só consegue identificar sequências específicas, requer um conhecimento prévio das sequências (TANNOCK, 2005; ZOETENDAL et al., 2004). Para análise mais específica, como a da AIEC, a sequência a ser estudada é de genes de virulência. Estudos demonstram que estas cepas apresentam diferentes genomas, que seriam capazes de detectar a presença e a capacidade de adesão e invasividade, alguns destes genes são o *fliC* e o *fimH* (DARFEUILLE-MICHAUD, 2002; PAMELA et al., 2017).

2.5.2 Métodos para avaliação de consumo alimentar

Para a realização de uma avaliação do consumo alimentar adequada, a escolha do método de inquérito dietético deve estar em conformidade com o objetivo da investigação, se este será da dieta total, de alimentos ou grupos de alimentos, dos padrões e propriedades da dieta e do tipo de nutriente, e, ainda, com as características da população estudada. Ressaltando que não existe um método de avaliação do consumo alimentar que seja

considerado perfeito, uma vez que este depende da memória do indivíduo investigado e da veracidade de suas respostas (KANIMURA et al. in: CUPPARI, 2007).

Os métodos de investigação dietética podem ser classificados em retrospectivos e prospectivos, sendo que a combinação de ambos também pode ser utilizada. O Recordatório de 24 horas (R24h), o Questionário de Frequência Alimentar (QFA), que pode ser qualitativo, semiquantitativo ou quantitativo, e a História Dietética são métodos retrospectivos. Já para avaliação prospectiva podem ser utilizados a Pesagem Direta, os Registros Alimentares (estimado ou pesado), Telefônico, Fotográfico ou em Videoteipe, os Registros Eletrônicos, além da Análise de Duplicatas de Porções e da Observação direta por registro de vídeo ou Observação Direta por observadores treinados (KANIMURA et al. in: CUPPARI, 2007).

Para escolha do método é preciso critério, se faz necessário ter atenção à população que será estudada, conhecer as vantagens e desvantagens de cada método e ser cauteloso no momento da coleta das informações. Quando a população-alvo do estudo são crianças é preciso ter atenção redobrada na escolha do método, uma vez que este grupo, normalmente, necessita que outra pessoa responda por eles, principalmente na idade pré-escolar. Além disso, as crianças ainda possuem o agravante de ter sua atenção desviada com facilidade por outros assuntos de interesse (FALCÃO-GOMES; COELHO; SCHMITZ, 2006).

A seleção do método adequado e utilização de instrumentos desenhados para a população infantil são imprescindíveis para a obtenção de dados confiáveis. É preciso considerar a grande variação de consumo diário, que pode ocorrer em algumas faixas etárias, a rápida mudança de hábitos alimentares e a incapacidade cognitiva da criança em poder relatar sua alimentação de forma fidedigna, sendo importante a participação dos pais, responsáveis ou cuidadores. E a qualidade dos dados fornecidos por estes também pode sofrer influência de outros fatores, como memória e motivação (FALCÃO-GOMES; COELHO; SCHMITZ, 2006).

Apesar de todas as limitações supracitadas, estudos sobre validação de métodos de inquérito dietético demonstram que o QFA é considerado um dos melhores métodos de investigação nutricional em estudos epidemiológicos, pois suas vantagens tornam possível sua aplicabilidade em pesquisas de grande porte, além de possuir relativa confiabilidade (ECK; KLESGES; KLESGES, 1996; SLATER et al., 2003).

Para realizar associação entre o consumo dietético com doenças crônicas, geralmente, utilizam-se os QFA. Pois, estes permitem avaliar a ingestão dietética sobre um extenso período de tempo, tais como meses e anos, baseado em uma lista de alimentos e na frequência de consumo destes (CRISPIM et al., 2009). Este é, ainda, um método considerado

relativamente rápido e de baixo custo, possibilitando a classificação do consumo habitual em níveis de ingestão (RIBEIRO et al., 2006).

Como citado no tópico anterior, diversos estudos vêm ligando grupos alimentares a modificações na microbiota, o que poderia modificar o curso da DII, justificando a crescente preocupação com o conhecimento do padrão de consumo alimentar de crianças e adolescentes portadores de DII.

3 MÉTODOS

3.1 LOCAL E PERÍODO

O estudo foi realizado no período de janeiro a julho de 2017, no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP, onde foram coletados os casos. O grupo controle foi composto por crianças e adolescentes da população geral, de bairros de classe média do Recife e em uma entidade beneficente, Lar Fabiano de Cristo.

O IMIP é um hospital filantrópico de assistência e ensino, seu ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica assiste crianças e adolescentes portadoras de DII, e é referência no estado de Pernambuco para essa doença. Os pacientes portadores de DII têm consultas com frequências mensais ou trimestrais, para avaliação clínica e laboratorial, assim como para atualização de laudos e prescrições para o recebimento de medicamentos, na sua maior parte fornecidos pela Secretaria de Saúde do Estado.

O Lar Fabiano de Cristo é uma instituição filantrópica que recebe crianças e adolescentes com vulnerabilidades de condições sociais e econômicas, desenvolvendo atividades socioassistenciais e socioeducativas com vista à promoção integral de saúde e educação dos indivíduos assistidos. Prestando apoio não somente as crianças e adolescentes, bem como a suas famílias, na tentativa de minimizar conflitos familiares.

O material fecal foi analisado pelo Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami (LIKA) e pelo Laboratório de Pesquisas Translacionais do IMIP, localizados na cidade do Recife.

3.2 DESENHO DO ESTUDO

Realizado estudo de casos com grupo controle, entre um grupo de casos portadores de DII e dois grupos de controles saudáveis. O grupo controle foi dividido de acordo com as condições ambientais as quais estavam expostos. Os controles coletados em bairros de classe média do Recife foram classificados em adequada condição ambiental e os coletados no Lar Fabiano de Cristo, em precária condição ambiental. Vale ressaltar que os controles do Lar Fabiano de Cristo estavam expostos a condições ambientais semelhantes às dos casos, pois ambos residiam em bairros com condições precárias de acesso à água tratada e saneamento básico.

3.3 SUJEITOS DO ESTUDO

3.3.1 Critérios de inclusão

- Critério de inclusão para os casos - crianças e adolescentes com diagnóstico confirmado de doença inflamatória intestinal realizado pelo Serviço de Gastropediatria do IMIP. O diagnóstico de DII foi definido conforme os Critérios de Porto revisados e a Classificação de Paris (LEVINE et al, 2011, 2014).
- Critério de inclusão para os controles expostos a adequadas e precárias condições ambientais- crianças e adolescentes, com idades semelhantes aos casos, com relato do responsável de ausência de doenças do trato gastrointestinal.

3.3.2 Critérios de exclusão

- Critério de exclusão para os controles – relato de outras doenças imunológicas (como alergias ou outras doenças autoimunes) ou em uso de antibiótico.

3.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

- Comensais – presença no material fecal de bactérias do gênero *Bifidobacterium* e/ou espécie *Faecalibacterium prausnitzii*
- Patobiontes – presença no material fecal das espécies *Escherichia coli* aderente-invasiva (AIEC) e/ou *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC).
- Condição ambiental – os controles foram categorizados segundo a condição ambiental a qual eram expostos em:
 - Precária condição ambiental (PCA) – indivíduos acompanhados pelo lar Fabiano de Cristo, que residiam em bairros do Recife com difícil acesso à água tratada e saneamento básico
 - Adequada condição ambiental (ACSE) – indivíduos pertencentes a famílias residentes em bairros de classe média do Recife, com acesso à água
 - Frequência de consumo alimentar - os alimentos foram divididos em dois grupos, um classificado como protetor o outro como de risco para a microbiota intestinal. O consumo foi analisado em escores e dividido em tercís, sendo

considerado baixo consumo 1º e 2º tercil e elevado consumo, aqueles que se enquadravam no terceiro tercil.

- Avaliação antropométrica:
 - Baixa estatura para idade - escore-z A/I < -2
 - Magreza - escore-z z P/I e ZIMC/I < -2
 - Eutrofia – escores z z P/I e ZIMC/I ≥ -2 e $\leq +1$
 - Excesso de peso escores-z P/I e ZIMC/I > +1.
- Percentual de massa gorda:
 - Em excesso: para meninos o valor > 18% foi considerado excesso de gordura corporal e para meninas o valor foi de > 25%.
 - Sem excesso: para meninos o valor <18% foi considerado excesso de gordura corporal e para meninas o valor foi de < 25%.

3.5 OPERACIONALIZAÇÃO

A equipe de pesquisa foi composta pela mestranda e por duas alunas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, que foram treinadas para a aplicação do questionário. A equipe frequentou semanalmente o ambulatório de DII do Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do IMIP. Inicialmente foi realizada uma triagem entre os prontuários disponíveis para identificação das crianças que se enquadravam nos critérios de inclusão. Quanto ao grupo controle, nos indivíduos recrutados em bairros de classe média do Recife, a abordagem foi realizada no domicílio do participante, agendando o dia da visita e da coleta da amostra; e no Lar Fabiano de Cristo, as pesquisadoras iam semanalmente para abordar indivíduos que se enquadrassem nos critérios de seleção do estudo. Em seguida, o responsável foi abordado e explicou-se quanto ao propósito da pesquisa, sendo então convidado a participar do estudo. Todos os responsáveis aceitaram participar da pesquisa e lhes foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Após a autorização, a coleta de dados foi realizada por um dos membros da equipe de pesquisa, procedia-se o preenchimento do questionário de pesquisa (Apêndice B) e posteriormente foi avaliado o estado nutricional através da antropometria e, nos casos, também foi realizada a bioimpedância elétrica. Em seguida, foi disponibilizado para o responsável um frasco para coleta da amostra de fezes, sendo solicitado que os casos trouxessem a amostra na próxima consulta; para os controles foi solicitado que os mesmos

retornassem com a amostra na semana seguinte. As pesquisadoras mantiveram contato telefônico com os responsáveis, a fim de ocorrer menor perda de material.

Os responsáveis foram instruídos a realizarem a coleta do material fecal da criança, receberam papel com instruções para a coleta, o pote estéril de polipropileno com solução estabilizante de RNA (RNAlater-Qiagen), com tampa de rosca, e pá acoplada ao pote. Foi dito aos mesmos que após a coleta a amostra deveria ficar refrigerada, podendo ficar entre 2 °C e 4 °C (geladeira) durante 24h, e que para transporte até o serviço a amostra deveria vir acondicionada em bolsa térmica com gelo. Àquelas que não possuíam condições para transporte foram fornecidos os materiais (isopor). No recebimento das amostras, as mesmas foram identificadas com caneta marcadora e transportadas no mesmo dia para o LIKA, em caixas térmicas, onde foram centrifugadas, separadas do RNA-later e congeladas a uma temperatura média de -80°C até o momento da análise. O tempo entre a coleta, transporte e armazenagem estava em consonância com as recomendações do fabricante do teste.

3.5.1 Métodos laboratoriais

3.5.1.1 Extração do DNA

Para extração do DNA bacteriano foi utilizado o kit o QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA obtido foi quantificado pelo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific).

A expressão relativa do DNA bacteriano foi analisada por meio de reações de PCR em Tempo Real (RT-PCR), utilizando-se o sistema SYBRGreen em aparelho ABI7500 (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido). Para as reações de PCR em Tempo Real, foram utilizados 5 ul do reagente SYBRGreen Master Mix (Applied Biosystems - que contém fluoróforo SYBRGreen 1; enzima polimerase AmpliTaq Gold; DNTPs com dUTP; fluoróforo ROX, utilizado como referência passiva para normalização dos níveis de fluorescência; e os demais componentes de tampão, já devidamente otimizados); 1,5 ul da solução de DNA (100 ng); 3,5 ul da solução contendo cada primer (0,1 ug/ul - a partir de uma solução stock, na qual cada primer se encontra na concentração de 5 ug/uL). A reação de amplificação compreende basicamente 2 minutos a 50°C, 15 minutos a 95°C, quarenta ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C, além de um ciclo final de vinte minutos, com temperatura crescente de 60 a 95°C, empregada para a obtenção de uma curva de dissociação dos produtos da reação, utilizada para a análise da especificidade de amplificação. Previamente, as reações de PCR em

Tempo Real foram otimizadas com relação às concentrações ideais de cada par de *primers* e temperatura de anelamento, de modo a maximizar eficiência e a especificidade de amplificação. O sistema utilizado realiza as reações de amplificação e detecção, e quantifica as amostras por meio da análise do nível de fluorescência gerado pela incorporação de nucleases fluorogênicas (SYBRGreen) aos produtos de amplificação durante o curso da reação. Os resultados foram analisados com base no valor de Ct (cycle threshold – ou ciclo limiar), sendo este o ponto correspondente ao número de ciclos no qual a amplificação das amostras atinge um limiar (determinado entre o nível de fluorescência dos controles negativos e a fase de amplificação exponencial das amostras) que permite a análise quantitativa da expressão do fator avaliado. A quantificação das bactérias analisadas foi feita por grama de fezes total usando $2^{CT}/g$ de fezes. Uma amostra negativa (água) foi submetida à reação com cada par das sequências dos *primers* utilizados. As sondas utilizadas estão dispostas no quadro 1.

Quadro 1. Sondas utilizadas para análise do DNA bacteriano.

<i>Bactéria</i>	<i>Forward</i>	<i>Reverse</i>	<i>Reference</i>
<i>E. coli</i> <i>enteroinvasiva 4</i>	AAAGCCGAAGCTGTCAG AAC	AGGAAGGGATAATCGGGA AG	Pubmed- Pick Primers
<i>E. coli</i> aderente- invasica (FimH gene)	TGCAGAACGGATAAGCC GTGG	GCAGTCACCTGCCCTCCG GTA	-Conte et al. BMC Res. 2014, 7:748
<i>Faecalibacterium</i> <i>prausnitizii</i>	CAGCAGCCGCGGTAAA	CTACCTCTGCACTACTCAA GAAA	Galeka, et al., 2013. Polish Journal of Microbiology
<i>Bifidobacterium</i>	GCGTGCTTAACACATGCA AGTC	CACCCGTTTCCAGGAGCT ATT	Pubmed- Pick Primers

3.5.2 Questionário de frequência alimentar

Para avaliar o padrão de consumo alimentar dos participantes foi utilizada uma adaptação dos QFA, o de Colucci et al. (2004) (Anexo 1), validado para crianças até 5 anos, e o de Slater et al. (2003) (Anexo 2) validado para adolescentes. O QFA de Colucci et al.

(2004) inclui perguntas relativas à frequência usual de consumo de 57 itens alimentares e o de Slater, de 94 itens; ambos apresentando sete opções de frequência a saber: nunca (FC1); menos de uma vez por mês (FC2); de 1 a 3 vezes por mês (FC3); 1 vez por semana (FC4); de 2 a 4 vezes por semana (FC5); 1 vez ao dia (FC6); 2 ou mais vezes ao dia (FC7).

A avaliação do consumo alimentar foi realizada com base na metodologia de Fornés et al (2002), podendo ser adotada como referência ao consumo diário equivalente a 360 dias do ano (consumo anual). Desse modo, para que a FC de cada alimento possa ser tratada como FC anual, foi atribuído um peso (S) a cada categoria de FC. Foi definido como peso (S) máximo o valor igual a 1 para a frequência de 2 ou mais vezes ao dia (FC6). Os demais pesos foram obtidos de acordo com a seguinte equação: $S_n = (1/365) \times [(a+b)/2]$ sendo que a e b representam o número de dias da frequência. Assim, para cada indivíduo, foi obtido o cálculo do escore de frequência de consumo de alimentos correspondente a dois grupos (Grupo I e Grupo II).

O Grupo I foi formado por alimentos considerados de protetores da eubiose, alimentos ricos em carboidratos complexos e fibras: macaxeira cozida, feijão, inhame, abóbora, alface, acelga, repolho, cenoura, chuchu, beterraba, maçã, pera, laranja/mexerica, mamão, melão, melancia, manga, uva, goiaba e abacaxi. O Grupo II foi formado por alimentos facilitadores da disbiose, ricos em gordura e proteína animal, açúcar e produtos industrializados: carne bovina cozida ou frita, batata frita, coxinha, pizza, refrigerante, açúcar, achocolatado, bolo, sorvete, biscoitos com e sem recheio, maionese, margarina/manteiga, cereal matinal, macarrão instantâneo, espessante, salsicha, presunto, pipoca de micro-ondas, suco artificial e molho de tomate.

Este questionário foi aplicado em forma de entrevista com o responsável, pela entrevistadora responsável pela pesquisa, em local acolhedor e reservado na instituição, para estimular a disponibilização das informações.

3.5.3 Antropometria

A avaliação antropométrica foi realizada com a mensuração dos seguintes parâmetros: estatura aferida e peso. Para mensuração da altura aferida foi utilizado um antropômetro vertical, com as crianças e adolescentes descalços e com os pés juntos, em posição ereta e olhando à frente, com braços ao longo do corpo, além disso, o dorso, as nádegas e a cabeça encostados no plano vertical do antropômetro.

O peso foi mensurado através da utilização de uma balança digital da marca Filizola, onde a criança estava sem sapatos e com roupas leves, em pé com os braços. Nos controles coletados no Lar Fabiano de Cristo não foi possível aferir peso e altura por não haver balança e estadiômetro, sendo coletado dados do cartão da criança quando a mãe possuía o dado. Os padrões antropométricos utilizados para comparação das medidas de peso e estatura foram as curvas para avaliação do crescimento da criança de zero a cinco anos e maiores de 5 anos da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006, 2007), empregando-se o programa WHO AnthroPlus® versão 3.2.2.

3.5.4 Bioimpedância elétrica

A determinação da bioimpedância elétrica (BIA) só foi realizada no grupo de casos, realizada através do aparelho Maltron BF-906 (Maltron, Reino Unido), com uma frequência de 50Hz em corrente alternada de quatro eletrodos. A criança ou adolescente foi posicionada em decúbito dorsal sobre uma superfície não condutora (em maca), com pernas e braços abduzidos a 45°. A pele dos participantes foi limpa com álcool nas áreas de contato com os eletrodos de superfície.

Os dados obtidos foram registrados no formulário estruturado (Apêndice B). A aplicação deste instrumento foi realizada pela própria pesquisadora, que passou por treinamento prévio com uma nutricionista experiente na sua execução.

Nesse momento as crianças estavam sendo avaliadas sem calçados e com o mínimo de roupas, além de retirar os acessórios metálicos (como relógios, anéis, cintos, brincos) (HEYWARD; STOLARCZYK, 2000). Para o diagnóstico do excesso de massa gorda foram utilizados os critérios propostos por Lohman (1987), para os meninos o acima de 18 foi considerado como excesso, para as meninas, o percentual acima de 25 como excesso.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

O presente projeto faz parte de um estudo denominado “Doença inflamatória intestinal em crianças e adolescentes: avaliação de polimorfismos genéticos e microbiota intestinal em hospital de referência do nordeste do Brasil”, já aprovado pelo Comitê de Ética sob o número 4125 e financiado pelo Edital Universal CNPQ 2014, número do Processo: 448000/2014-8.

Os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e tempo necessário para aplicação do questionário e procedimentos realizados. Não foram feitos procedimentos invasivos, não oferecendo riscos aos indivíduos participantes.

O presente projeto está de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde (resolução 466/12) que estabelece as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisas envolvendo Seres Humanos e será submetido à avaliação do Comitê de Ética do IMIP, sendo a coleta de dados somente iniciada após a aprovação deste.

3.7 LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS

Os problemas metodológicos podem acontecer devido às conclusões serem baseadas em poucos casos, não sendo uma amostra representativa da população de estudo. O pequeno tamanho amostral foi por livre demanda do Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do IMIP.

Quanto ao método de análise da microbiota, apesar de permitir a identificação e quantificação de grupos bacterianos presentes tanto nas fezes quanto nos tecidos intestinais, necessita que haja um conhecimento prévio das bactérias que foram analisadas, restringindo os grupos bacterianos estudados.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas da microbiota das amostras fecais foram realizadas pelo *software Graphpad Prism*. Para determinar se as variáveis quantitativas possuem distribuição normal, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Como a distribuição da amostra não foi normal, o teste t de Wilcoxon foi utilizado para comparar as variáveis. O nível de significância foi de 5% ($p \leq 0,05$).

A construção do banco de dados sobre a frequência de consumo dos alimentos foi realizada no programa Epi-info versão 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, USA) com dupla entrada de informações e verificadas com o módulo VALIDATE, para checar a consistência e validação das mesmas. As análises estatísticas foram realizadas no SPSS 13.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Após o cálculo dos escores de frequência de consumo alimentar, a associação entre consumo alimentar e as variáveis explicativas foram avaliadas pelos testes “U” de Mann Whitney (duas medianas) e Kruskal Wallis (mais de duas medianas), empregando-se o teste

“U” de Mann Whitney a posteriori. Para significância estatística das associações investigadas também foi adotado o valor de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Participaram do estudo 42 crianças e adolescentes com doença inflamatória intestinal, com idade entre dois e dezessete anos, e 64 crianças e adolescentes do grupo controle. A mediana da idade dos participantes foi de 8,8 anos ($\pm 4,5$). Verifica-se diferença estatisticamente significativa no que se refere à idade e à região de moradia, 45% provenientes do interior do estado entre os casos, 7% entre os controles ($p < 0,05$). Dentre os casos, a mediana foi de 10 anos, estando a maior parte destes (57,5%) na faixa etária acima de 10 anos. A mediana da idade no momento do diagnóstico foi de 8 ($\pm 4,2$). Para os pacientes com DC a mediana foi de 3 anos. Já para os pacientes com RCU, a mediana da idade de diagnóstico foi de 8 ($\pm 3,6$).

Dos 42 casos, 24 eram do sexo masculino e 18 do sexo feminino, não havendo diferença estatística. Não houve diferença estatística entre os tipos de DII. Mais pacientes com DC estavam em atividade da doença (47,82%) quando comparados aos pacientes com RCU (31,58%) segundo os scores de atividade de doença, sem diferença estatística. Dentre os portadores de DII, 37,4% apresentava algum sinal ou sintoma clínico e todos estavam em uso de algum dos medicamentos utilizados no tratamento da doença, podendo utilizar mais de um medicamento simultaneamente. Quanto aos sintomas, os mais frequentes foram: distensão abdominal, diarreia e perda de sangue nas fezes, respectivamente. Os dados sociodemográficos e clínicos da população do estudo estão apresentados na tabela 2.

Ao avaliar o estado nutricional (Tabela 3), foi evidenciada uma frequência significativamente maior de baixa estatura entre os casos (23,1% vs 4,7%; $p = 0,034$). Dentre os casos que apresentaram déficit de altura, oito eram portadores de DC e apenas 3 de RCU. Apenas um indivíduo do grupo de casos foi classificado com baixo peso. Dos 64 controles, não foi possível realizar peso e altura de 21 indivíduos, devido às mães não estarem com o cartão da criança no momento da coleta, e por não saberem informar tais medidas da criança.

A avaliação da composição corporal foi feita no grupo de casos, não sendo possível realizar a bioimpedância em três dos casos, devido impossibilidade de colar o eletrodo na pele. Foi averiguada uma maior frequência de excesso de massa gorda (61,5%), não havendo diferença entre os sexos. Dentre os pacientes com DC, 75% apresentou excesso de massa gorda, sem diferença estatística quando comparados aos indivíduos com RCU, mas com p limítrofe. A tabela 4 traz os dados de avaliação do estado nutricional a partir da bioimpedância dos indivíduos do estudo.

Tabela 2. Caracterização sociodemográfica e clínica de crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal.

Características sociodemográficas	Amostra (N = 106)									
	Caso (N=42)					Controle (N=64)				
	Ad. Cond. ambiental		Prec. Cond. ambiental			Ad. Cond. Ambiental		Prec. Cond. Ambiental (n=40)		
	(n=1)		(n=41)			(n=24)				
	n	%	n	%	p	n	%	n	%	p*
Idade										
0 a <6 anos	0	0	8	19,5	,65	7	29,2	19	47,5	,096
6 a < 10 anos	0	0	11	26,8		10	41,7	7	17,5	
10 a 17 anos	1	100	22	53,7		7	29,2	14	35	
Sexo										
Masculino	1	100	23	56,1	1,0	14	58,3	15	37,5	,13
Feminino	0	0	18	43,9		10	41,7	25	62,5	
Renda familiar mensal per capita♦					,024					,00
1 a 3 salários mínimos	0	0	41	100		0	0	40	100	
> 3 salários mínimos	1	100	0	0		24	100	0	0	
Região de moradia					,452					
Recife e RM*	0	0	23	56,1		22	91,7	39	97,5	,551
Interior	1	100	18	43,9		2	8,3	1	2,5	
Condições clínicas dos casos (n =42)										
Tipo de DII**										
DC*	1	100	22	53,7	1,0					
RCU**	0	0	19	46,3						
Sinais de atividade de DII										
Sim	0	0	15	37,5	1,0					
Não	1	100	25	62,5						

♦ Renda em salários mínimos, valor da época - R\$937,00 *RM: Região Metropolitana; *Teste do Qui-quadrado **DII: Doença Inflamatória Intestinal; *DC=Doença de Crohn; **RCU=Retocolite Ulcerativa

Tabela 3. Classificação do estado nutricional de crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal.

Classificação	Amostra (N = 99)*													
	Caso (N=40)					Controle (N=59)					Total (n=99)			
	Ad. Cond. ambiental (n=1)		Prec. Cond. ambiental (n=39)		p	Ad. Cond. Ambiental (n=24)		Prec. Cond. Ambiental (n=35)		p*	Caso (n=40)		Controle (n=59)	
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%
Escore z Altura por idade (ZA/I)[□]					1,0					,69				
Déficit de altura (< Escore-z -2)	0	0	9	23,1		2	8,3	5	14,3		9	22,5	7	11,9
Altura adequada (≥ Escore-z -2)	1	100	30	76,9		22	91,7	30	85,7		31	77,5	52	88,1
Escore z IMC por idade (ZIMC/I)[□]					1,0					,79				
Sem excesso de peso (< Escore-z +1)	1	100	27	69,2		14	58,3	22	62,9		28	70	36	69,8
Com excesso de peso (> Escore-z +1)	0	0	12	30,8		10	41,7	13	37,1		12	30	23	30,2

Tabela 4 - Classificação do resultado da bioimpedância de crianças e adolescentes com doença inflamatória intestinal.

Classificação	Amostra (n=39)*			
Massa Magra (MM) % **	N		%	
Média±DP	76,3±8,4			
Massa Gorda (MG) (%) ^{o***}				
Sem excesso	15		38,5	
Em excesso	25		61,5	
Média±DP				
	DC (n =20)		RCU (n=19)	
Massa Gorda (MG) (%)	n	%	n	%
Sem excesso	5	25	10	52,6
Em excesso	15	75	9	47,4

,07

*Não foi possível realizar a bioimpedância em 3 casos. **Não foi evidenciado diferencial estatisticamente significativo na comparação entre os sexos. ***Em excesso >18% nos meninos e >25% nas meninas.

O consumo alimentar foi avaliado em tercís (Tabela 5), verifica-se que o consumo, acima do 3º tercíl, de alimentos considerados de risco, foi significativo menor entre os casos do que entre os controles. Não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre o consumo de alimentos de proteção entre os grupos caso e controle, tendo sido o consumo baixo em todos os grupos (todos apresentaram menos de 20% de indivíduos com consumo $\geq$ 3º tercíl).

Tabela 5 – Classificação do consumo de alimentos considerados de risco e protetores por crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal.

Classificação	Amostra (N = 106)														
	Caso (N=42)*					Controle (N=64)*					Total (n=106)				
	Ad. Cond. ambiental (n=1)		Prec. Cond. ambiental (n=41)		p	Ad. Cond. Ambiental (n=24)		Prec. Cond. Ambiental (n=40)		p*	Caso (n=42)		Controle (n=64)		p
Consumo alimentar (escore)	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
Grupo 1 - Proteção															
1º e 2º tercil (< 0,1921)	1	100	33	80,5	1,0	19	79,2	30	75	,77	34	81	49	76,6	,638
≥ 3º tercil (≥0,1921)	0	0	8	19,5		5	20,8	10	15		8	19	15	23,4	
Grupo 2 - Risco 7															
1º e 2º tercil (< 0,1405)	0	0	34	82,9	,19	15	62,5	20	50	,438	34	81	35	54,7	,007
≥ 3º tercil (≥0,1405)	1	100	7	17,1		9	37,5	20	50		8	19	29	45,3	

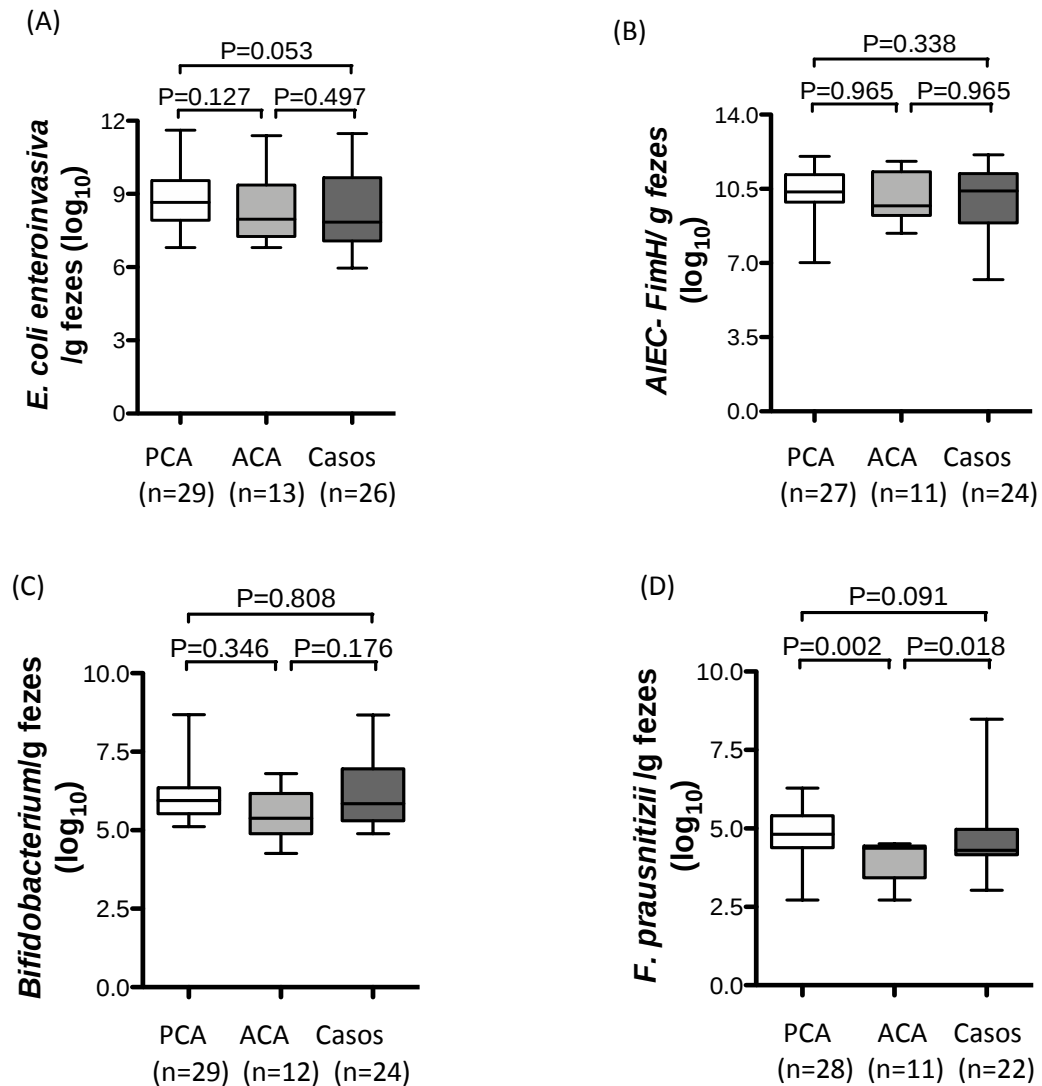
*Alguns dos indivíduos do estudo não terminaram de responder ao questionário de frequência alimentar, não sendo possível calcular seu score de alimentação

Em seguida, foram analisadas as quantificações das bactérias *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* aderente-invasiva (AIEC), *Bifidobacterium* e da *F. prausnitzii* nas amostras fecais de crianças e adolescentes com e sem doença inflamatória intestinal. A quantificação das bactérias elencadas nos grupos foi realizada por grama de fezes. As análises foram feitas separando os controles de acordo com a condição ambiental.

Dentre os indivíduos recrutados, somente 27 casos e 44 controles entregaram a amostra de fezes para análise, destes, 29 viviam em precária condição ambiental e 15 em adequada condição ambiental. Como observado na figura 1, não houve diferença estatística na quantificação das bactérias *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* aderente-invasiva e no gênero *Bifidobacterium*, uma vez que o grupo de casos e controles têm quantidades semelhantes destas bactérias. No entanto, a quantificação de *F. prausnitzii* foi menor nos controles do que nos casos, e os controles que viviam em adequadas condições ambientais (ACA) foram os que apresentaram menores contagens desta espécie quando comparados tanto aos casos como aos controles de precária condição ambiental (PCA).

Dos 27 casos que entregaram a amostra de fezes, 77,8% (n=21) apresentaram algum tipo de disbiose. Destes 21 indivíduos com características de disbiose intestinal, 18,5% (n=5) tiveram elevadas quantificações dos patobiontes e baixas dos comensais, 18,5% (n=5) tinham redução somente de bactérias comensais e 52,4% (n=11) apresentaram somente quantidades elevadas de patobiontes. Dos 44 controles que forneceram amostra de fezes, 65,9% (n=29) apresentaram alguma característica de disbiose. Destes 29 indivíduos, apenas 6,9% (n=2) apresentaram quantidades elevadas de patobiontes e baixa de comensais simultaneamente, 44,8% (n=13) tinham elevadas quantificações somente de patobiontes e 48,3% (n=14) tiveram redução somente na quantificação de bactérias comensais.

Figura 1 - Avaliação da quantificação de bactérias em amostras fecais de crianças e adolescentes.¹



¹ Foram avaliadas através de PCR em tempo real a quantificação das bactérias: *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* aderente-invasiva, *Bifidobacterium* e *F. prausnitzii* em amostras de fezes de crianças e adolescentes com doença inflamatória intestinal (casos) e controles saudáveis de baixa condição socioeconômica (BCSE) e de adequada condição socioeconômica (ACSE). (A) *E. coli* enteroinvasiva, (B) *E. coli* aderente-invasiva, (C) *F. prausnitzii* e (D) *Bifidobacterium*. A expressão gênica foi avaliada utilizando a grama de fezes como referência. Foi utilizado o T test não paramétrico, Wilcoxon, sendo encontrada diferença estatística na quantidade de *F. prausnitzii* ($p<0,05$).

5 DISCUSSÃO

No presente estudo não foram encontradas diferenças estatísticas quando comparadas a microbiota fecal de pacientes com DII e controles expostos a ambas condições ambientais quanto a quantificação dos patobiontes pesquisados, nem do comensal *Bifidobacterium*. No entanto, ao analisar a quantificação de *F. prausnitzii*, os controles que viviam em melhores condições ambientais apresentaram quantidades menores do que os casos e os controles que viviam em precárias condições ambientais.

Estes achados discordam da literatura, uma vez que dados demonstram que a microbiota intestinal de crianças e adolescentes portadores de DII apresenta maior abundância da espécie *Escherichia coli*, principalmente naqueles com DC, quando comparados a controles saudáveis (SUSKIND et al., 2018; GEVERS et al., 2014; LEWIS; ABREU, 2017; BAUMGART et al., 2007; KOTLOWSKI et al., 2007).

As cepas de AIEC e EIEC são consideradas patobiontes, sendo capazes de aderir e invadir as células epiteliais intestinais, bem como replicar dentro de macrófagos (DARFEUILLE-MICHAUD, 2002). Na presença da DII, algumas particularidades podem contribuir para a invasão das células da mucosa por AIEC e EIEC, como imunidade da mucosa alterada e disfunção da barreira intestinal (ELLIOTT et al., 2013; ELLINGHAUS et al., 2012). Outro fator que facilitaria a invasão e adesão da AIEC é a inflamação intestinal crônica decorrente da DII, pois estudos em modelos animais têm destacado a importância da presença de disbiose precedente e/ou inflamação intestinal para o sucesso infecção com AIEC (CARVALHO et al., 2008).

Analisando esta discrepância frente aos dados da literatura, uma possível explicação seria o fato dos estudos que avaliaram a expressão de AIEC em pacientes com DII, especialmente na DC, o fizeram a partir de biópsia intestinal (BAUMGART et al., 2007; DOGAN et al., 2013; MARTINEZ-MEDINA et al., 2009). Por esta estar aderida à mucosa, pode ter sido subquantificada na amostra fecal. Estudos que analisam as contagens deste patobionte a partir de biópsia intestinal demonstraram que pacientes com DC apresentam maior abundância do que controles saudáveis, sustentando que para que a AIEC consiga aderir à mucosa é preciso de condições favoráveis, não ocorrendo com facilidade no intestino saudável (DARFEUILLE-MICHAUD et al., 2004; DOGAN et al., 2013; HORNEF et al., 2015). Autores corroboram esta hipótese, de forma que esta adesão à mucosa em pacientes com RCU ocorre em maior proporção em pacientes que estão em atividade da doença (PILARCZYK-ZUREK et al., 2013; SHA et al., 2013).

Outro fator que poderia justificar a elevada quantificação de cepas patogênicas de *E. coli* em ambos os grupos, principalmente de baixas condições socioeconômicas, seria a exposição destes a ambiente mais contaminado por enteropatógenos, inerente ao nordeste do Brasil. Sabe-se que as baixas condições socioeconômicas no Nordeste do Brasil podem tê-los expostos a maior contaminação ambiental através do consumo de água não adequadamente tratada e da ausência de saneamento básico. Analisando o acesso à água tratada e saneamento, dados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (2015), no estado de Pernambuco, 34% da população não tinha acesso à água tratada e cerca de 80% não possuíam saneamento básico (BRASIL, 2015), aumentando a chance de falta de acesso a estes pela população de estudo. A falta de instalações sanitárias resulta na eliminação descontrolada de resíduos domésticos e humanos em fontes de água circundantes à população, poluindo esta água e favorecendo o crescimento de microrganismos, como a *E. coli* (PAULSE et al., 2012). A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que qualquer água destinada ao consumo humano seja isenta de *E. coli* (OMS, 2008).

Estudo realizado na África, outra região com precárias condições de saneamento, avaliou a qualidade da água de poços e de fluviais que se encontravam próximos às comunidades, dentre as 19 amostras de água, somente 3 não continham EIEC (ABIA et al., 2017). Neste estudo foram avaliadas outras espécies patobiontes de *E. coli*, e todas as espécies foram encontradas nas águas, mas não avaliaram AIEC. É provável que, em regiões de maior pobreza, com menos recurso para o adequado tratamento da água, exista maior chance de consumo de água contaminada por EIEC e AIEC patogênica. Outro fator que vem sendo discutido que pode influenciar AIEC seria a alimentação, que será discutido mais adiante.

No presente estudo, como dito anteriormente, ao contrário da maioria dos estudos publicados, o grupo de pacientes com DII apresentou quantidades significativamente maiores do comensal *F. prausnitzii* do que os controles, principalmente aqueles que viviam em adequada condição ambiental. A *F. prausnitzii* é considerada um comensal, pois apresentaria efeito limitando a inflamação intestinal, ao fermentar glicose, produzindo butirato (DUNCAN et al., 2007), que é a principal fonte de energia para as células intestinais, auxiliando na integridade de barreira (SOKOL et al., 2008), desempenhando papel na proteção contra a invasão de patógenos, e ainda participando da modulação do sistema imunológico, inibindo a resposta inflamatória (MACFARLANE; MACFARLANE, 2011; VARELA et al., 2013). Em meta-análise, Cao, Shen e Ran (2014) encontraram que em pacientes adultos com DII a contagem de *F. prausnitzii* foi significativamente menor do que em controles saudáveis. Estudos de coorte realizados nos EUA e na Alemanha com crianças e

adolescentes com DII demonstraram que nestes, a contagem de *F. prausnitizii* foi significativamente menor do que em controles saudáveis (WANG et al., 2014; KOLHO et al., 2015).

Existem poucos estudos sobre a composição da microbiota de crianças em regiões pobres do mundo, poucos estudos no Brasil e nenhum no Nordeste, portanto, não se conhece o perfil da colonização das crianças brasileiras expostas a diferentes contextos ambientais. Estudo transversal realizado em Osasco (São Paulo) comparou a microbiota fecal de crianças de 5 a 11 anos de uma comunidade e de uma escola privada. Nele, os autores relataram que as crianças da escola privada, que apresentavam melhores condições ambientais e socioeconômicas, apresentaram microbiota intestinal menos favorável, tendo menor quantidade do filo *Firmicutes*, ao qual a *F. prausnitizii* pertence (MELO et al., 2016). Desta forma, os achados do presente estudo corroboram com o estudo de Melo et al. (2016), uma vez que também foi evidenciado que a quantificação deste comensal foi menor entre os controles que viviam em adequadas condições ambientais.

No estudo de Melo et al. (2016), as crianças da comunidade, de precárias condições ambientais e menor classe socioeconômica, apresentaram maior contagem de *E. coli*, o que confirma a tendência encontrada na presente série de casos.

Divergindo de dados da literatura, não foram encontradas diferenças significativas entre os casos e controles, quanto à expressão do gênero *Bifidobacterium*. A literatura demonstra que pacientes pediátricos com DII podem apresentar redução do gênero *Bifidobacterium*, sendo esta uma bactéria atribuída a uma microbiota mais saudável (WANG et al., 2014). Tal fato foi observado em estudos realizados em países da Europa e dos Estados Unidos. Um caso controle realizado na Alemanha com 69 pacientes portadores de DII com idade de 1 a 20 encontrou redução significativa na contagem de *Bifidobacterium* nos casos quando comparados aos controles (SCHWIERTZ et al., 2010).

Os possíveis efeitos comensais das bifidobactérias seriam atribuíveis ao fato de serem organismos fermentativos, produtores de ácidos acético e lático, que tendem a baixar o pH do intestino e, dessa forma, inibir a proliferação de microrganismos patogênicos (ASAHARA et al., 2004). A maioria dos estudos que analisaram o efeito das bifidobactérias no intestino, o fizeram a partir do uso de probióticos, que são microrganismos vivos que trazem benefícios para a saúde do hospedeiro (ZAKOSTELSKA et al., 2011; PATEL et al., 2012).

As discrepâncias no presente trabalho, com relação à literatura, podem ser devidas à necessidade de pré-determinação das bactérias que foram analisadas com base na literatura, sendo escolhidos os microrganismos que tenham sido destacados como relevantes na

população pediátrica com DII. Como não existem estudos regionais sobre a microbiota intestinal, pode ser que estas bactérias não apresentem a mesma relevância na população de estudo.

Outra possível causa pode ser as diferentes exposições ambientais sofridas pela população do estudo quando comparadas às populações europeias e americanas. Um dos fatores ambientais que mais vem sendo associado à modificação da microbiota intestinal é a questão do consumo alimentar (KASHTANOVA et al., 2016; YATSUNEKO et al., 2012).

Estudos demonstram que o elevado ou baixo consumo de certos tipos de alimentos pode favorecer o crescimento de bactérias com potencial efeito patogênico e reduzir a expressão de bactérias comensais (BHUTE et al., 2016; DUNCAN et al., 2007; GRZEŚKOWIAK et al., 2012).

Os controles (principalmente os de precárias condições ambientais) apresentaram maior consumo de alimentos do grupo de risco para a saúde da microbiota intestinal do que os casos, podendo essa “menor frequência de consumo alimentar” estar associada ao fato dos casos terem recebido orientações nutricionais durante o tempo de acompanhamento no serviço especializado. De outra forma, embora inferior aos controles, ¼ dos casos ainda apresentou elevado consumo de alimentos de risco. Os alimentos pertencentes a este grupo são alimentos ricos em açúcares simples, proteína animal, gordura, principalmente gorduras saturadas e *trans*, e em componentes não nutricionais utilizados pela indústria alimentícia para melhorar a textura, o sabor e para aumentar o tempo de conservação, que são em geral a maltodextrina (MDX), os emulsificantes e os conservantes.

Aditivos alimentares específicos, utilizados pela indústria alimentícia, também são investigados quanto aos seus efeitos prejudiciais à homeostase intestinal (NICKERSON et al., 2014; RUEMMELE, 2016). A MDX é amplamente utilizada para melhorar textura e sabor de alimentos industrializados, e tem sido associada à expansão da *E. coli* em estudos in vivo realizados em leitões (MCDONALD et al., 2001). Estudos experimentais revelaram que a MDX favoreceu a formação de biofilme da AIEC e a adesão em células epiteliais e macrófagos intestinais (NICKERSON et al., 2012; DARFEUILLE-MICHAUD et al., 2004). Emulsificantes, por sua vez, provocam supercrescimento bacteriano, diminuem a função da barreira de mucosa, diminuindo a viscosidade do muco, desta forma facilita a translocação bacteriana para as células intestinais (ROBERTS et al., 2010; SWIDSINSKI et al., 2009; SWIDSINSKI et al., 2007).

Tais conhecimentos poderiam justificar potenciais fatores responsáveis pela quantificação semelhante de EIEC e AIEC em casos e controles, uma vez que o grupo

controle apresentou consumo significativamente maior de alimentos considerados de risco quando comparados aos casos; enquanto os pacientes com DII, apesar de possuírem maior risco de serem colonizados por AIEC (VAZEILLE et al., 2015), apresentaram menor consumo de alimentos deste grupo.

A possível influência destes alimentos considerados de risco para a microbiota intestinal saudável sobre o curso da DII vem sendo mais explorada nas últimas décadas, principalmente em relação a DC. Estudos avaliam a influência de dietas com restrição de alimentos pertencentes a este grupo sobre a atividade inflamatória. Alguns exemplos seriam a dieta de carboidratos específicos (specific carbohydrate diet – SCD), dieta com baixo teor de oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e poliois fermentáveis (FODMAP) e a dieta anti-inflamatória. Na dieta SCD e na redução de FODMAPs são excluídos alimentos ricos em carboidratos complexos e açúcares simples, partindo do pressuposto que estes tipos de carboidratos passam praticamente intactos para o cólon, podendo levar a um supercrescimento bacteriano e de leveduras, acarretando uma menor produção de muco e lesão intestinal (KNIGHT-SEPULVEDA et al., 2015; SHEPHERD; GIBSON, 2006). Autores demonstraram que pacientes com DII que aderiam a estas dietas apresentaram melhora da resposta aos fármacos, melhora dos sintomas e maior tempo de remissão (GEARRY et al., 2009; SUSKIND et al. 2014). Na dieta anti-inflamatória indica-se a redução da ingestão de gordura total e saturada (KNIGHT-SEPULVEDA et al., 2015). Estudo realizado com crianças e adolescentes com DII demonstrou que aqueles que aderiram à dieta com estas restrições alimentares apresentaram aumento de 9,6% da *F. prausnitizii* após duas semanas do início da dieta (SUSKIND et al., 2018). A menor quantificação do comensal *F. prausnitizii*, nos controles, então, também pode ter sido influenciada pelo estilo alimentar adotado, uma vez que os casos apresentaram menor consumo de alimentos considerados de risco para manutenção da microbiota saudável.

O consumo de alimentos protetores da homeostase da microbiota intestinal, ou seja, os alimentos ricos em fibras, foi baixo tanto nos casos como nos controles, evidenciando o mau hábito alimentar infantil na região. Este grupo era formado por alimentos considerados saudáveis, como frutas, verduras, legumes, raízes e tubérculos.

A literatura demonstra que o maior consumo de alimentos ricos em fibras aumenta o crescimento de *Bifidobacterium* (LANE; ZISMAN; SUSKIND, 2017). Ensaios clínicos randomizados demonstraram que o consumo de fibras aumentou a contagem de *Bifidobacterium* em população saudável (MEYER, 2015; TOJO et al., 2014). Grześkowiak et al. (2012) compararam a contagem de algumas bactérias, incluindo *Bifidobacterium*, entre

crianças da África, que apresentam alimentação rica em fibras, e do Norte europeu, que apresentam alta ingestão de gordura na dieta, principalmente saturada, demonstrando que as crianças da África apresentaram maior quantidade deste gênero do que as crianças europeias.

Embora a literatura evidencie o papel benéfico das fibras, não há proposta de intervenção dietética para controle da DII através do aumento do consumo de fibras; todas as intervenções dietéticas propostas sugerem o benefício da restrição de alimentos que possam promover disbiose. A *Guidelines da European Society for Clinical Nutrition and Metabolism - ESPEN* (2017) traz que ainda não existe um consenso de qual a “dieta oral para DII” que possa ser recomendada para promover remissão em pacientes com doença ativa. Para pacientes pediátricos, estudos demonstram que o uso da nutrição enteral exclusiva ou parcial pode promover melhor cicatrização da mucosa e favorecer a composição da microbiota intestinal, reduzindo a permeabilidade intestinal, aumentando a barreira de defesa e reduzindo a inflamação (FORBES et al., 2017; LEWIS; ABREU, 2017; GROVER; MUIR; LEWINDON, 2014; ZACHOS et al., 2007; BORRELLI et al., 2006).

No entanto, as fibras poderiam apresentar efeito anti-inflamatório devido ao aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) durante sua fermentação. (LEE et al., 2015; MAZZON et al., 2005; YOUN et al., 2009). Então, a Academia de Nutrição e Dietética (2008), as Fundações de Crohn e Colite da América (2013) e a Organização Mundial de Gastroenterologia (2015) chegaram ao consenso de que a fibra dietética não deve ser restrita em pacientes com DIIs em remissão, a menos que haja a presença de estenoses. Davis et al (2015) demonstraram que o consumo da dieta mediterrânea, que enfatiza o consumo de frutas, vegetais, legumes, peixes e gorduras poli-insaturadas, teria associação negativa com o risco de desenvolver a DII.

Ao avaliar o estado nutricional da população de estudo, as crianças e adolescentes do grupo de casos apresentaram maior frequência de baixa estatura quando comparados aos controles, principalmente nos casos com DC. Uma das razões para esta maior proporção de déficit de estatura entre os pacientes com DC pode ter sido porque estes pacientes apresentaram idade de diagnóstico mais precoce do que os com RCU, podendo a doença e o tratamento ter interferido no crescimento destes. Este achado concorda com a literatura, uma vez que estudos demonstram que pacientes com DC quando comparados ao grupo controle saudável, apresentam redução nos parâmetros de crescimento (KAMMERMEIER et al., 2016; PAUL et al., 2006).

Quanto ao diagnóstico com relação ao IMC/I, não foram encontrados indivíduos com desnutrição no grupo estudado e cerca de um terço dos casos apresentou excesso de peso. Em

contraste com o encontrado em outros estudos, que identificaram diagnóstico de baixo peso para idade em seus pacientes pediátricos com DII (LIMA et al., 2013; AURANGZEB et al., 2011; SYLVESTER et al., 2009). Estas diferenças podem ocorrer devido a estes estudos terem avaliado o estado nutricional com os dados de peso e altura no momento do diagnóstico da doença, enquanto no presente estudo os pacientes já eram acompanhados há mais tempo pelo serviço, podendo apresentar melhor controle da doença e já fazerem uso de medicamentos como corticosteroides, que podem resultar em maior incremento de peso.

Dentre os casos, pôde-se observar que mais da metade apresentou percentual de gordura corporal elevado. Este excesso de gordura corporal foi mais evidente nos pacientes com DC. Callias et al. (2016), ao avaliar a composição corporal de crianças e adolescentes de 10 a 18 anos com DII, encontraram que a média do percentual de gordura foi de $26,5\% \pm 7,4$. Esta presença de excesso de gordura corporal pode ter ocorrido devido ao uso prolongado de corticosteroides que pode modificar a composição corporal, elevando percentual de gordura e reduzindo o de massa magra (OLIVEIRA; EMERICK; SOARES, 2010).

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a quantificação das bactérias estudadas na microbiota fecal de crianças e adolescentes em tratamento para DII em um hospital de referência no nordeste do Brasil não apresentou diferença estatística na quantificação de EIEC, AIEC e *Bifidobacterium* quando comparado a controles saudáveis. Havendo uma tendência de maiores expressões de EIEC e de AIEC entre os controles expostos a precárias condições ambientais e os casos, o que pode demonstrar que o fator ambiental pode estar influenciando, uma vez que estes grupos apresentaram condições ambientais similares. A quantificação de *F. prausnitzii*, no entanto, foi maior entre os casos quando comparados a ambos os grupos controles, e os casos e os controles de BCSE apresentaram quantidades maiores do que os controles com ACSE, com significância estatística.

Ao analisar o padrão de consumo alimentar, pôde-se observar que os controles de ambas as condições ambientais apresentaram maior consumo de alimentos considerados facilitadores de disbiose do que os casos. No que diz respeito ao consumo de alimentos considerados protetores da eubiose, tanto os casos como os controles de baixa e adequada condição ambiental, tiveram consumo reduzido deste grupo alimentar. Demonstrando o baixo consumo de alimentos saudáveis pela população infantil no geral.

Comparando o estado nutricional das crianças e adolescentes com DII do IMIP com os grupos controles, os casos apresentaram menores índices de estatura/idade. Não foi observada maior frequência de baixo peso entre os casos, tendo aproximadamente um terço dos casos apresentado excesso de peso, e mais da metade dos pacientes com DII apresentaram elevação do percentual de gordura corporal, mostrando que estes indivíduos possuem alterações da composição corporal.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os indivíduos da região onde foi realizado o estudo podem apresentar perfil de microbiota diferente do que relatado nos estudos internacionais. Podemos supor que estas discrepâncias na quantificação das bactérias em relação às pesquisas usualmente realizadas em países europeus ou nos Estados Unidos da América estejam relacionadas à diferente carga bacteriana ambiental a qual ambos os grupos de crianças foram expostas no Nordeste do Brasil.

Estudos nacionais são escassos e não existem pesquisas no Nordeste que analisem a microbiota intestinal, tanto em indivíduos saudáveis, como em portadores de DII. Uma vez que a literatura demonstra que a microbiota se modifica de acordo com a região, são necessários estudos em indivíduos brasileiros para se conhecer o perfil da microbiota desta população em situação de saúde e de doença.

A influência dos fatores ambientais, principalmente da alimentação, sobre a microbiota intestinal, vem ganhando destaque por ser capaz de moldar a microbiota e influenciar a inflamação intestinal. É importante entender o papel do alimento na DII, para que a alimentação possa ser utilizada como auxiliar no tratamento da doença, reduzindo a utilização de medicamentos e aumentando os períodos de remissão. Apesar de não existir um consenso sobre qual o melhor perfil alimentar para auxiliar na modulação da microbiota e controle da inflamação na DII, a exclusão dos alimentos considerados de riscos parece ser particularmente importante para a saúde intestinal destes pacientes.

Destaca-se, então, que a relação microbiota, dieta, higiene e DII é complexa e precisa ser melhor estudada.

REFERÊNCIAS

- ABIA, A. L. K.; SCHAEFER, L.; UBOMBA-JASWA, E.; ROUX, W. L. Abundance of Pathogenic *Escherichia coli* Virulence-Associated Genes in Well and Borehole Water Used for Domestic Purposes in a Peri-Urban Community of South Africa **Int. J. Environ. Res. Public Health**. v.14, n. 3, p. 320, 2017.
- ACOSTA, B.-DE, M.; ALVAREZ, C. A.; SOUTO, R.; IGLESIAS, M.; LORENZO, A.; DOMINGUEZ-MUNOZ, J. E. Emigration to western industrialized countries: a risk factor for developing inflammatory bowel disease. **J Crohns Colitis**. v. 5, n. 6, p. 566–9, 2011.
- ADAMIAK, T.; WALKIEWICZ-JEDRZEJCZAK, D.; FISH, D. et al. Incidence, Clinical Characteristics, and Natural History of Pediatric IBD in Wisconsin: a Population-based Epidemiological Study. **Inflammatory bowel diseases**, v. 19, n. 6, p. 1218-1223, 2013.
- ADLERBERTH, I. Establishment of the gut microbiota in Western infants. **Acta Paediatr**, v. 98, n. 2, p. 229–238, 2009.
- ADLERBERTH, I. et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. **J Allergy Clin Immunol**, v. 120, n. 2, p. 343–350, 2007.
- AMRE, D. K. et al. Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for crohn's disease in children. **Am J Gastroenterol**, v. 102, n. 9, p. 2016–2025, 2007.
- AMRE, D. K.; D'SOUZA, S.; MORGAN, K.; SEIDMAN, G.; LAMBRETTE, P.; GRIMARD, G. et al. Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn's disease in children. **Am J Gastroenterol**. v. 102, n. 9, p. 2016–25, 2007.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N. et al. Long-term intake of dietary fat and risk of ulcerative colitis and Crohn's disease. **Gut**, v. 63, n. 5, p. 776–84, 2014.
- ASAHARA, T.; SHIMIZU, K.; NOMOTO, K.; HAMABATA, T.; OZAWA, A.; TAKEDA, Y. Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. **Infect. Immun.**, v. 72, p. 2240-2247, 2004.
- ASHTON, J. J. et al. Rising incidence of paediatric inflammatory bowel disease (PIBD) in Wessex, Southern England. **Arch Dis Child**, v. 99, n. 2014, p. 659–664, 2014.
- AURANGZEB, B.; LEACH, S. T.; LEMBERG, D. A.; DAY, A. S. Assessment of nutritional status and serum leptin in children with inflammatory bowel disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. v. 52, p. 536–541, 2011.
- BARBALHO, S. M.; GOULART, R. de A.; QUESADA, K.; BECHARA, M. D.; DE CARVALHO, A. de C. A. Inflammatory bowel disease: can omega-3 fatty acids really help? **Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**. v. 29, n. 1, p. 37-43, 2016.
- BAUMGART, M.; DOGAN, B.; RISHNIW, M. et al. Culture independent analysis of ileal

mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. **Isme J.** v.1, p.403–18, 2007.

BEAL, J. et al. Late Onset Necrotizing Enterocolitis in Infants following Use of a Xanthan Gum-Containing Thickening Agent. **J Pediatr**, v. 161, n. 2, p. 354–356, 2012.

BHUTE, S. et al. Molecular characterization and meta-analysis of gut microbial communities illustrate enrichment of *Prevotella* and *Megasphaera* in Indian Subjects. **Front Microbiol.**, v. 7, n. May, p. 1–14, 2016.

BIESIEKIERSKI, J. R.; PETERS, S. L.; NEWNHAM, E. D. et al. No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. **Gastroenterology**. v.45, n.2, p.320–328.e1-3, 2013.

BORRELLI, O.; CORDISCHI, L., CIRULLI, M.; PAGANELLI, M.; LABALESTRA, V.; UCCINI, S. et al. Polymeric diet alone versus corticosteroids in the treatment of active pediatric Crohn's disease: a randomized controlled open-label trial. **Clin Gastroenterol Hepatol**. v. 4, n. 6, p. 744–53, 2006.

BORRUEL, N. et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 38, n. April, p. 151–161, 2013.

BRADLEY, I. F.; HINOJOSA, J. Definiciones , manifestaciones clínicas y diagnóstico de la enfermedad de Crohn. **Medicine**, v. 11, n. 5, p. 257–265, 2012.

BRASIL. SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, 2015.

BRINKWORTH, G. D. et al. Comparative effects of very low-carbohydrate , high-fat and high- carbohydrate , low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. **Br J Nutr**, v. 101, p. 1493–1502, 2009.

BROWN, A. C.; RAMPERTAB, S. D.; MULLIN, G. E. Existing dietary guidelines for Crohn's disease and ulcerative colitis. **Expert Rev Gastroenterol Hepatol**. v.5, n.3, p.411–25, 2011.

CALLIAS, C.; EZRI, J.; MARQUES-VIDAL, P. M.; NYDEGGER, A. Assessment of skinfold thickness equations in estimating body composition in children with inflammatory bowel disease. **Journal of Paediatrics and Child Health**. v. 52, p. 547–555, 2016.

CANI, P. D. et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 56, n. July, p. 1761–1772, 2007.

CANNIOTO, Z.; BERTI, I.; MARTELOSSI, S.; BRUNON, I.; GIURI, N.; CROVELLA, S.; VENTURA, A. IBD and IBD mimicking enterocolitis in children younger than 2 years of age. **Eur J Pediatr**, v. 168, n. 2, p. 149–155, 2009.

CAO, Y.; SHEN, J.; RAN, Z. H. Association between *Faecalibacterium prausnitzii* Reduction

and Inflammatory Bowel Disease : A Meta-Analysis and Systematic Review of the Literature. **Gastroenterol Res Pract**, v. 2014, p. 1–7, 2014.

CARVALHO, F. A.; BARNICH, N.; SAUVANET, P. et al. Crohn's disease-associated *Escherichia coli* LF82 aggravates colitis in injured mouse colon via signaling by flagellin. **Inflamm Bowel Dis**, v. 14, p. 1051–60, 2008.

CASTRO, M. et al. Inflammatory bowel disease in children and multicenter in Italy: Data from the Pediatric National IBD Register (1996- 2003). **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 14, n. 9, p. 1246-52, 2008.

CHASSAING, B.; KOREN, O.; GOODRICH, J. et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. **Nature**. v.519, n.7541, p.92-96, 2015.

CHU, D. M.; AAGAARD, K. M. Eating for trillions. **Nature**, v. 532, n. 4, p. 316–317, 2016.

CLEMENTE, J. C. et al. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1258–1270, 2012.

CLEMENTS, S. J.; CARDING, S. R. Diet, the intestinal microbiota and immune health in ageing. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 0, p. [Epub ahead of print], 2016.

CONTE, M. P. et al. Adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) in pediatric Crohn ' s disease patients : phenotypic and genetic pathogenic features. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 748, p. 1–12, 2014.

COLUCCI, A. C. A.; PHILIPPI, S. T.; SLATER, B. Desenvolvimento de um questionário de frequência alimentar para avaliação do consumo alimentar de crianças de 2 a 5 anos de idade/Development of a food frequency questionnaire for children aged 2 to 5 years. **Rev. Bras. Epidemiol**, v. 7, n. 4, p. 393-401, 2004.

COSKUN, M. Intestinal epithelium in inflammatory bowel disease. **Front Med**, v. 2014, n. August, p. 1–24, 2014.

CRISPIM, S. P. et al. Validade relativa de um questionário de frequência alimentar para utilização em adultos. **Rev Nutri**, v. 22, n. 1, p. 81–95, 2009.

CROHN'S AND COLITIS FOUNDATION OF AMERICA. **Diet, nutrition, and inflammatory bowel disease**. 2013. Disponível em:<<http://www.ccfa.org/assets/pdfs/diet-nutrition-2013.pdf>.>.

CULTRONE, A. et al. Metagenomics of the human intestinal tract : from who is there to what is done there. **Current Opinion in Food Science**, v. 4, p. 64–68, 2015.

D'SOUZA, S. et al. Dietary patterns and risk for Crohn's disease in children. **Inflamm Bowel Dis**, v. 14, n. 3, p. 367–373, 2008.

DARFEUILLE-MICHAUD A, BOUDEAU J, BULOIS P, NEUT C, GLASSER AL, BARNICH N, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. **Gastroenterology**, v. 127, p. 412–421, 2004.

DARFEUILLE-MICHAUD, A.; COLOMBEL, J. Pathogenic *Escherichia coli* in inflammatory bowel diseases : Proceedings of the 1st International Meeting on *E. coli* and IBD, **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 2, n. 3, p. 255–262, 2008.

DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559–563, 2014.

DAVIS, C.; BRYAN, J., HODGSON, J.; MURPHY, K. Definition of the Mediterranean diet; a literature review. **Nutrients**. v. 7, p. 9139–53, 2015.

DENOU, E. R.; PANOFF, J.; ARIGONI, F.; BRU" SSOW, H. Gut Microbial Interactions A Mesocosm of *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium longum*, and *Escherichia coli* in the Mouse Gut Emmanuel. **Dna And Cell Biology**, v. 28, n. 8, 2009.

DOGAN, B.; SCHERL, E.; BOSWORTH, B.; YANTISS, R.; ALTIER, C.; MCDONOUGH, P. L.; JIANG, Z. D.; DUPONT, H. L.; GARNEAU, P.; HAREL, J., et al. Multidrug resistance is common in *Escherichia coli* associated with ileal Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**. v.19, p.141–150, 2013.

DOMINIKA, Š. et al. The study on the impact of glycated pea proteins on human intestinal bacteria. **Int J Food Microbiol**, v. 145, n. 2011, p. 267–272, 2011.

DUNCAN, S. H. et al. Reduced Dietary Intake of Carbohydrates by Obese Subjects Results in Decreased Concentrations of Butyrate and Butyrate-Producing Bacteria in Feces. **Appl Environ Microbiol**, v. 73, n. 4, p. 1073–1078, 2007.

DUNCAN, S. H. et al. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. **Environ Microbiol**, v. 11, n. 8, p. 2112–2122, 2009.

ECK, L. H.; KLESGES, L. M.; KLESGES, R. C. Precision and estimated accuracy of two short term food frequency questionnaires compared with recalls and records. **J Clin Epidemiol**, v. 49, n. 10, p. 1195–1200, 1996.

ELLINGHAUS, D.; ELLINGHAUS, E.; NAIR, R. P. et al. Combined analysis of genome-wide association studies for Crohn disease and psoriasis identifies seven shared susceptibility loci. **Am J Hum Genet**. v.90, p.636–47, 2012.

ELLIOTT, T. R.; HUDSPITH, B. N.; WU, G. et al. Quantification and characterization of mucosa-associated and intracellular *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis**. v.19, p.2326–38, 2013.

FADDA, M. A.; PEEDIKAYIL, M. C.; KAGEVI, I. Inflammatory bowel disease in Saudi Arabia: a hospital-based clinical study of 312 patients. **Annals of Saudi Medicine**. v. 32, n. 3, 2012.

FADERL, M. et al. Keeping bugs in check: The mucus layer as a critical component in

maintaining intestinal homeostasis. **IUBMB Life**, v. 67, n. 4, p. 275–285, 2015.

FALCÃO-GOMES, R. C.; COELHO, A. A. S.; SCHMITZ, B. D. A. S. Caracterização dos estudos de avaliação do consumo alimentar de pré-escolares. **Rev Nutri**, v. 19, n. 6, p. 713–727, 2006.

FERREIRA, P.; CRAVO, M.; GUERREIRO, C.S. et al, Fat intake interacts with polymorphisms of caspase9, Fas ligand and PPARgamma apoptotic genes in modulating Crohn's disease activity. **Clin Nutr**. v.29, p.819–823, 2010.

FORBES, A.; ESCHER, J.; HÉBUTERNE, XAVIER.; KŁE, S.; KRZNNARIC, Z.; SCHNEIDER, S.; SHAMIR, R.; STARDELOVA, K.; WIERDSMA, N.; WISKIN, A. E.;

FORNÉS, N. S. et al. Escores de consumo alimentar e níveis lipêmicos em população de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n.1, Feb. 2002.

BISCHOFF, S. C. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. **Clin Nutr**. v. 36, p. 321-347, 2017.

FUNG, K. Y. C. et al. A Review Article A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. **Br J Nutr**, v. 108, n. 2012, p. 820–831, 2012.

GABERT, L. et al. ¹³C tracer recovery in human stools after digestion of a fat-rich meal labelled with [1,1,1-¹³C] tripalmitin and [1,1,1-¹³C]triolein. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 25, n. April, p. 2697–2703, 2011.

GALVEZ, J. et al. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. **Mol. Nutr. Food**, v. 49, n. 6, p. 601–8, 2005.

GEARRY, R. B.; IRVING, P. M.; BARRETT, J. S.; NATHAN, D. M.; SHEPHERD, S. J.; GIBSON, P. R. Reduction of dietary poorly absorbed short-chain carbohydrates (FODMAPs) improves abdominal symptoms in patients with inflammatory bowel disease-a pilot study. **J Crohns Colitis**, v. 3, n. 1, p.8–14, 2009.

GERSEMANN, M.; WEHKAMP, J.; STANGE, E. F. Innate immune dysfunction in inflammatory bowel disease. **J Intern Med**, v. 271, n. 5, p. 421–428, 2012.

GEVERS, D. et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn ' s disease. **Cell Host Microbe**, v. 15, n. 3, p. 382–392, 2014.

GORKIEWICZ, G. Nosocomial and antibiotic-associated diarrhoea caused by organisms other than Clostridium difficile. **Int J Antimicrob Agents**, v. 33, p. S37–S41, 2009.

GOTO, Y.; KIYONO, H. Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system. **Immunol. Rev.**, v.245, p.147–163, 2012.

GOWER-ROUSSEAU, C. et al. Mortality and Cancer in Paediatric Inflammatory Bowel Disease: A Population- Based Study. **Am J Gastroenterol**, v. 108, n. 10, p. 1647–53, 2013.

GROVER, Z.; MUIR, R.; LEWINDON, P. Exclusive enteral nutrition induces early clinical, mucosal and transmural remission in paediatric Crohn's disease. **J Gastroenterol**, v. 49, n. 4, p. 638–45, 2014.

GRZEŚKOWIAK, Ł. et al. Distinct Gut Microbiota in Southeastern African and Northern European Infants. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 54, n. 6, p. 812–816, 2012.

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. **Indian J Med Microbiol**, v. 27, p. 202–209, 2009.

HAMER, H. M. et al. Functional analysis of colonic bacterial metabolism: Relevant to health? Functional analysis of colonic bacterial metabolism: relevant to health? **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 302, n. 2012, p. G1–G9, 2012.

HASHASH, J. G.; BINION, D. G. Managing *Clostridium difficile* in Inflammatory Bowel Disease (IBD). **Curr Gastroenterol Rep**, v. 16, n. 393, p. 14–19, 2014.

HAYASHI, H. et al. Molecular analysis of fecal microbiota in elderly individuals using 16S rDNA library and T-RFLP. **Microbiol Immunol**, v. 47, n. 8, p. 557–570, 2003.

HEYWARD, V. H.; STOLARCZYK, L. M. **Avaliação da composição corporal aplicada**. São Paulo: Manole; 2000.

HIERGEIST, A. et al. Analyses of Intestinal Microbiota: Culture versus Sequencing. **ILAR Journal**, v. 56, n. 2, p. 228–40, 2015.

HIMMEL, M. E. et al. Regulatory T-cell therapy for inflammatory bowel disease: more questions than answers. **Immunology**, v. 136, p. 115–122, 2012.

HOERMANNSPERGER, G.; CLAVEL, T.; HOFFMANN, M.; REIFF, C. et al. Post-translational inhibition of IP-10 secretion in IEC by probiotic bacteria: impact on chronic inflammation. **PLoS One**, v.4, p. e4365, 2009.

HOLD, G. L. et al. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 5, p. 1192–1210, 2014.

HOLMES, E. et al. Gut Microbiota Composition and Activity in Relation to Host Metabolic Phenotype and Disease Risk. **Cell Metabolism**, v. 16, n. 5, p. 559–564, 2012.

HOOPER, L. V.; MACPHERSON, A. J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. **Nat Rev Immunol**, v. 10, n. 3, p. 159–69, 2010.

HOU, J. K.; ABRAHAM, B.; EL-SERAG, H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. **Am J Gastroenterol**, v. 106, n. 4, p.563–73, 2011.

JAKOBSEN, C. et al. Environmental factors and risk of developing paediatric inflammatory bowel disease - A population based study 2007-2009. **J. Crohn's Colitis**, v. 7, n. 1, p. 79–88, 2013.

JANTCHOU, P. et al. Animal protein intake and risk of inflammatory bowel disease: The E3N prospective study. **Am J Gastroenterol**, v. 105, n. May, p. 2195–201, 2010.

JERNBERG, C. et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. **Microbiology**, v. 156, n. 11, p. 3216–3223, 2010.

JOHN, S. et al. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and the aetiology of ulcerative colitis: a UK prospective cohort study. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, v. 22, n. 5, p. 602–6, 2010.

KAAKOUSH, N. O. et al. Microbial dysbiosis in pediatric patients with Crohn's disease. **J Clin Microbiol**, v. 50, n. 10, p. 3258–3266, 2012.

KAISTHA, A.; LEVINE, J. Inflammatory bowel disease: the classic gastrointestinal autoimmune disease. **Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care**, v. 44, n. 11, p. 328–34, 2014.

KAMMERMEIER, J.; DZIUBAK, R.; PESCARIN, M. et al. Phenotypic and Genotypic Characterisation of Inflammatory Bowel Disease Presenting Before the Age of 2 years. **Journal of Crohn's & Colitis**. v.11, n. 1, p. 60-69, 2017.

KANIMURA et al. In: CUPPARI, 2007. **Nutrição Clínica no Adulto**. 2^a. ed. São Paulo: [s.d.].

KAPPELMAN, M. D. et al. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. **Dig Dis Sci**, v. 58, n. 2, p. 519–525, 2013.

KAROLEWSKA-BOCHENEK, K. A; LAZOWSKA-PRZEOREK, I. A; ALBRECHT P. A et al. Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease among Children in Poland A Prospective, Population-Based, 2-Year Study, 2002–2004. **Digestion**. v. 79, n. 2, p. 121-129, 2009.

KASHTANOVA, D. A. et al. Association between the gut microbiota and diet : Fetal life , early childhood , and further life. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 620–627, 2016.

KEITA, V. et al. Translocation of Crohn ' s disease Escherichia coli across M-cells : contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifiers. **Inflamm Bowel Dis**, v. 59, p. 1331–1339, 2010.

KIM, E. S.; KIM, W. H. Inflammatory Bowel Disease in Korea: Epidemiological, Genomic, Clinical, and Therapeutic Characteristics. **Gut and Liver**. v. 4, n. 1, p.1-14, 2010.

KNIGHT-SEPULVEDA, K.; KAIS, S.; SANTAOLALLA, R.; ABREU, M. T. Diet and Inflamm Bowel Disease. **Gastroenterol Hepatol**,v. 11, n. 8, p. 511-520, 2015.

KO, J. K.; AUYEUNG, K. K. Inflammatory Bowel Disease : Etiology , Pathogenesis and Current Therapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 7, p. 1082–1096, 2014.

KOENIG, J. E. et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, v. 108, n. suppl. 1, p. 4578–4585, 2010.

KOLHO, K.; KORPELA, K.; JAAKKOLA, T.; PICHAJ, M. V. A. et al. Fecal Microbiota in Pediatric Inflammatory Bowel Disease and Its Relation to Inflammation. **Am J Gastroenterol**. v.110, n.6, p.921-30, 2015.

KOTLOWSKI, R.; BERNSTEIN, C. N.; SEPEHRI, S. et al. High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. **Gut**. v.56, p. 669–75, 2007.

KOVATCHEVA-DATCHARY, P. et al. Tools for the tract: understanding the functionality of the gastrointestinal tract. **Ther Adv Gastroenterol**, v. 2, n. Suppl 1, p. S9–S22, 2009.

LANE, E. R.; ZISMAN, T. L.; SUSKIND, D. L. The microbiota in inflammatory bowel disease: current and therapeutic insights. **Journal of Inflammation Research**. v. 10, p.63-73, 2017.

LANG, D.; MAL-ED, N. I. Opportunities to assess factors contributing to the development of the intestinal microbiota in infants living in developing countries. **Microb Ecol Health Dis**, v. 26, p. 1 – 11, 2015.

LATTIMER, J. M.; HAUB, M. D. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1266–1289, 2010.

LEDGER, O.; CATTO-SMITH, A. G., OLIVER, M. R.; ALEX, G.; CAMERON, D. J. S.; HARDIKA, W. Clinical Patterns and Outcome of Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. **JPGN**. V. 59, n. 5, 2014.

LEE, D.; ALBENBERG, L.; COMPHER, C. et al. Diet in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. **Gastroenterology**, v. 148, n. 6, p.1087-1106, 2015.

LEVINE, A. et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 58, n. 6, p. 795–806, 2014.

LEVINE, A. et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. **Inflamm Bowel Dis**, v. 17, n. 6, p. 1314–1321, 2011.

LEWIS, J. D.; ABREU, M. T. Diet as a trigger or therapy for inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**. v. 152, p. 398-414, 2017.

LEY, R. E.; BACKHED, F.; TURNBAUGH, P., et al. Obesity alters gut microbial ecology. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v.102, p.11070–11075, 2005.

LIMA, M. M.; SILVA, L. R.; FRANCA, R. C. P.; SANTANA, G. O.; RIBEIRO, I. T. Perfil de pacientes pediátricos com doenças inflamatórias intestinais, atendidos em ambulatório de referência na Cidade do Salvador. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v.12, n.3, p.337-343, 2013.

LOHMAN, T.G. The use of skinfold to estimate body fatness on children and youth. **Journal of Physical Education, Recreation & Dance**, v. 58, n.9, p. 98-103, 1987.

LOPETUSO, L. R. et al. The gastrointestinal microbiome - Functional interference between stomach and intestine. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 6, p. 995–1002, 2014.

LOPEZ-SILES, M.; MARTINEZ-MEDINA, M.; BUSQUETS, D.; SABAT-MIR, M.; DUNCAN, S.; FLINT, H.; ALDEGUER, X.; GARCIA-GIL, L. Mucosa-associated *Faecalibacterium prausnitzii* and *Escherichia coli* co-abundance can distinguish Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease phenotypes. **Int J Med Microbiol**. 2014.

LOZUPONE, C. A. et al. Diversity , stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**, v. 489, n. 9, p. 220 – 230, 2012.

MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics, **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 45, supplement, p. S120–S127, 2011.

MACPHERSON, A. J.; HARRIS, N. L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. **Nat Rev Immunol**, v. 4, n. 6, p. 478–485, 2004.

MANDAL, R. S.; SAHA, S.; DAS, S. Metagenomic Surveys of Gut Microbiota. **Genomics, Proteomics and Bioinformatics**, v. 13, n. 3, p. 148–158, 2015.

MARTINEZ-MEDINA, M.; ALDEGUER, X.; LOPEZ-SILES, M.,; GONZÁLEZ-HUIX, F.; LÓPEZ-OLIU, C.; DAHBI, G.; BLANCO, J. E.; BLANCO, J.; GARCIA-GIL, L. J.; DARFEUILLE-MICHAUD, A. Molecular diversity of *Escherichia coli* in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive *E. coli* (AIEC) in Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**. v.15, p. 872–882, 2009.

MARTINEZ-MEDINA, M.; DENIZOT, J.; DREUX, N. et al. Western diet induces dysbiosis with increased *E coli* in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. **Gut**, v. 63, p.116–24, 2014.

MAZZON, E.; MUIA, C.; PAOLA, R. D.; GENOVESE, T.; MENEGAZZI, M.; DE SARRO, A.; SUZUKI, H.; CUZZOCREA, S. Green tea polyphenol extract attenuates colon injury induced by experimental colitis. **Free Radic Res**, v. 39, p. 1017–25, 2005.

MCDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly-weaned pigs. **Br J Nutr.**, v.86, p. 487–498, 2001.

MELO, C. S.; CARMO-RODRIGUES, M. S.; FILHO, H. B.; MELLI, L. C.; TAHAN, S.; PIGNATARI, A. C.; DE MORAIS, M. B. Gut Microbiota Differences in Children From Distinct Socioeconomic Levels Living in the Same Urban Area in Brazil. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**. v.63, n.5, p.460-465, 2016.

MEYER, D. Chapter Two - Health Benefits of Prebiotic Fibers. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 74, p. 47-91, 2015.

MILLS, D. J. S. et al. Dietary glycated protein modulates the colonic microbiota towards a

more detrimental composition in ulcerative colitis patients and non-ulcerative colitis subjects. **J Appl Microbiol**, v. 105, n. 2008, p. 706–714, 2008.

MIQUEL, S. et al. Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. **Curr Opin Microbiol**, v. 16, n. 3, p. 255–261, 2013.

MOHAMADZADEH, M.; PFEILER, E. A.; BROWN, J. B. et al. Regulation of induced colonic inflammation by Lactobacillus acidophilus deficient in lipoteichoic acid. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v.108, p.4623–4630, 2011.

MOLODECKY, N. A. et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases whit time, based onsystematic review. **Gastroenterology**, v. 142, n. 1, p. 46–54, 2012.

MONDOT, S. et al. Highlighting New Phylogenetic Specificities of Crohn ’ s Disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 17, n. 1, p. 185–192, 2011.

MONSTAD, I. et al. Clinical course and prognosis in ulcerative colitis : results from population-based and observational studies. **Ann Gastroenterol**, v. 27, n. 2, p. 95–104, 2014.

MOYANA, T. N.; LALONDE, J.-M. A. Carrageenan-Induced Intestinal Injury in the Rat — A Model for Inflammatory Bowel Disease *. **Ann Clin Lab Sci**, v. 20, n. 6, p. 420–426, 1990.

MOZAFFARIAN, D. et al. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. **N Engl J Med**, v. 354, n. 15, p. 1601–1613, 2006.

MÜLLER, K. E. et al. Incidence and Paris Classification of Pediatric Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterol Res Pract**, v. 2014, p. 10 pages, 2014.

NICKERSON, K. P. et al. The Dietary Polysaccharide Maltodextrin Promotes Salmonella Survival and Mucosal Colonization in Mice. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 1–10, 2014.

NICKERSON, K. P.; MCDONALD, C. Crohn ’ s Disease-Associated Adherent-Invasive Escherichia coli Adhesion Is Enhanced by Exposure to the Ubiquitous Dietary Polysaccharide Maltodextrin. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. 1–13, 2012.

NITZAN, O. et al. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease : Role in pathogenesis and implications in treatment. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 43, p. 7577–7585, 2013.

NITZAN, O. et al. Role of antibiotics for treatment of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 22, n. 3, p. 1078–1087, 2016.

OCTORATOU, M. et al. A prospective study of pre-illness diet in newly diagnosed patients with Crohn ’ s disease. **Rev Med Chir Soc Med Nat Iași**, v. 116, n. 1, p. 40–9, 2012.

OKADA, Y. et al. Trans fatty acids in diets act as a precipitating factor for gut inflammation ? **J Gastroenterol Hepatol**, v. 28, p. 29–32, 2013.

OLENDZKI, B. C.; SILVERSTEIN, T. D.; PERSUITTE, G. M.; MA, Y.; BALDWIN, K. R.; CAVE, D. An anti-inflammatory diet as treatment for inflammatory bowel disease: a case series report. **Nutr J.** v.13, n. 5, 2014.

OLIVEIRA, F. M.; EMERICK, A. P. D. C.; SOARES, E. G. Aspectos epidemiológicos das doenças intestinais inflamatórias na macrorregião de saúde leste do Estado de Minas Gerais. **Ciência & Saúde Coletiva.** v.15, p.1031-37, 2010.

ONG, D. K.; MITCHELL, S. B.; BARRETT, J. S. et al. Manipulation of dietary short chain carbohydrates alters the pattern of gas production and genesis of symptoms in irritable bowel syndrome. **J Gastroenterol Hepatol.** v.25, n.8, p.366–1373, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. OMS. **Guidelines for Drinking-Water Quality: Recommendations**, 3rd ed.; World Health Organization Press: Geneva, Switzerland, Volume 1, 2008.

PALMER, C. et al. Development of the human infant intestinal microbiota. **PLoS Biology**, v. 5, n. 7, p. 1556–1573, 2007.

PATEL, R. M.; MYERS, L. S.; KURUNDKAR, A. R.; MAHESHWARI, A.; NUSRAT, A.; LIN, P. W. Probiotic bacteria induce maturation of intestinal claudin 3 expression and barrier function. **Am. J. Pathol.** v.180, p.626–635, 2012.

PAUL, T.; BIRNBAUM, A.; PAL, D. K.; PITTMAN, N.; CEBALLOS, C.; LELEIKO, N. S.; BENKOV, K. Distinct Phenotype of Early Childhood Inflammatory Bowel Disease. **J Clin Gastroenterol.** v. 40, n. 7, 2006.

PAULSE, A.; JACKSON, V.; KHAN, S.; KHAN, W. Isolation and identification of bacterial pollutants from the Berg and Plankenburg Rivers in the Western Cape, South Africa. **Water SA.** v.38, p. 819–824, 2012.

PENDERS, J. et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. **Pediatrics**, v. 118, n. 2, p. 511–521, 2006.

PILARCZYK-ZUREK, M.; CHMIELARCZYK, A.; GOSIEWSKI, T.; TOMUSIAK, A.; ADAMSKI, P.; ZWOLINSKA-WCISLO, M.; MACH, T.; HECZKO, P. B.; STRUS, M. Possible role of *Escherichia coli* in propagation and perpetuation of chronic inflammation in ulcerative colitis. **BMC Gastroenterol.** v.13, 2013.

PINHO, M. A Biologia Molecular das Doenças Inflamatórias Intestinais Molecular. **Rev Bras Coloproct**, v. 28, n. 1, p. 119–123, 2008.

QUÉVRAIN, E. et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. **Gut**, v. 0, p. 1–11, 2015.

RAMSAY, A. G. et al. Cell-associated α -amylases of butyrate-producing Firmicute bacteria from the human colon. **Microbiology**, v. 152, n. 2006, p. 3281–3290, 2006.

RASO, T. et al. Analysis of *Escherichia coli* Isolated from Patients Affected by Crohn's Disease. **Curr Microbiol**, v. 63, p. 131–137, 2011.

REHMAN, A.; LEPAGE, P.; NOLTE, A.; HELLMIG, S.; SCHREIBER, S.; OTT, S. J. Transcriptional activity of the dominant gut mucosal microbiota in chronic inflammatory bowel disease patients. **J Med Microbiol.** v.59, p. 1114–1122, 2010.

RHODES, J. M. The role of *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. **Gut.** v. 56, n. 5, p. 610-612, 2007.

RIBEIRO, A. C. et al. Validação de um questionário de frequência de consumo alimentar para população adulta. **Rev Nutri**, v. 19, n. 5, p. 553–562, 2006.

ROBERTS, C. L.; KEITA, A. V.; DUNCAN, S. H.; O’KENNEDY, N.; SÖDERHOLM, J. D.; RHODES, J. M.; CAMPBELL, B. J. Translocation of Crohn’s disease *Escherichia coli* across M-cells: contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifiers. **Gut**, v.59, p.1331-1339, 2010.

RUEMMELE, F. M. Role of Diet in Inflammatory Bowel Disease. **Ann Nutr Metab**, v. 68, n. suppl 1, p. 1592–1600, 2016.

RUIZ-ALVAREZ, V.; DIAZ-SANCHEZ, M. E.; RODRÍGUEZ-DOMÍNGUEZ, L.; PUIG-PEÑA, Y., et al. Body fat, inflammation and gut microbiota in cuban adolescents. **Ann Nutr Metab.** v. 63, suppl1, p. 1–1960, 2013.

SANTOS, A. C. da S.; ROMEIRO, F. G.; SASSAKI, L. Y.; RODRIGUES, J. *Escherichia coli* from Crohn’s disease patient displays virulence features of enteroinvasive (EIEC), enterohemorrhagic (EHEC), and enteroaggregative (EAEC) pathotypes. **Gut Pathogens.** v. 7, n. 1, 2015.

SASAKI, M.; SITARAMAN, S. V.; BABBIN, B. A.; GERNER-SMIDT, P.; RIBOT, E. M.; GARRETT, N.; ALPERN, J. A.; AKYILDIZ, A.; THEISS, A. L.; NUSRAT, A., et al. Invasive *Escherichia coli* are a feature of Crohn’s disease. **Lab Invest.** v.87, p.1042–1054, 2007.

SCHLESSINGER, D. et al. Accumulation of 30S preribosomal ribonucleic acid in an *Escherichia coli* mutant treated with chloramphenicol. **Biochemistry**, v. 13, n. 21, p. 4268–4271, 1974.

SCHMIDT, E. G.; CLAEISSON, M. H.; JENSEN, S. S.; RAVN, P.; KRISTENSEN, N. N. Antigen-presenting cells exposed to *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Bifidobacterium bifidum* BI-98, and BI-504 reduce regulatory T cell activity. **Inflamm. Bowel Dis.**, v.16, p.390–400, 2010.

SCHOCH, C. L. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 109, n. 16, p. 1–6, 2012.

SCHWIERTZ, A. et al. Microbiota in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 157, n. 2, p. 240–245, 2010.

SHA, S. et al. The biodiversity and composition of the dominant fecal microbiota in patients

with in fl ammatory bowel disease. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 75, n. 2013, p. 245–251, 2013.

SHEPHERD, S. J.; GIBSON, P. R. Fructose malabsorption and symptoms of irritable bowel syndrome: guidelines for effective dietary management. **J Am Diet Assoc.** v. 106, p. 1631–1639, 2006.

SIMPSON, H. L.; CAMPBELL, B. J. Review article : dietary fibre – microbiota interactions. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 42, p. 158–179, 2015.

SLATER, B. et al. Validation of Food Frequency Questionnaires - FFQ: methodological considerations. **Rev Bras Epidemiol.**, v. 6, n. 3, p. 200–208, 2003.

SOKOL, H.; PIGNEUR, B.; WATTERLOT, L. et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v.105, n.43, p.16731-16736, 2008.

SPEHLMANN, M. E. et al. Risk factors in German twins with inflammatory bowel disease : Results of a questionnaire-based survey. **J Crohns Colitis**, v. 6, n. 1, p. 29–42, 2012.

STECHEER, B. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection. **Microbiol Spectr.**, v. 3, n. 3, 2015.

SUSKIND, D. L.; WAHBEH, G.; GREGORY, N.; VENDETTUOLI, H.; CHRISTIE, D. Nutritional therapy in pediatric Crohn disease: the specific carbohydrate diet. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.** v.58, n. 1, p.87–91, 2014.

SUSKIND, D. L; COHEN, S. A.; BRITTNACHER, M. J. et al. Clinical and Fecal Microbial Changes With Diet Therapy in Active Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology.** v.52, n.2, p.155-163, 2018.

SWIDSINSKI, A. et al. Active Crohn’s disease and ulcerative colitis can be specifically diagnosed and monitored based on the biostructure of the fecal flora. **Inflamm Bowel Dis**, v. 14, n. 2, p. 147–161, 2008a.

SWIDSINSKI, A. et al. Bacterial Biofilm Suppression with Antibiotics for Ulcerative and Indeterminate Colitis : Consequences of Aggressive Treatment. **Arch Med Res**, v. 39, p. 198–204, 2008b.

SWIDSINSKI, A. et al. Bacterial Overgrowth and Inflammation of Small Intestine After Carboxymethylcellulose Ingestion in Genetically. **Inflamm Bowel Dis**, v. 15, n. 3, p. 359–364, 2009.

SWIDSINSKI, A. et al. Viscosity Gradient Within the Mucus Layer Determines the Mucosal Barrier Function and the Spatial Organization of the Intestinal Microbiota. **Inflamm Bowel Dis**, v. 13, n. 8, p. 963–970, 2007.

SYLVESTER, F. A.; LEOPOLD, S.; LINCOLN, M.; HYAMS, J. S.; GRIFFITHS, A. M.; LERER, T. A two-year longitudinal study of persistent lean tissue deficits in children with Crohn's disease. **Clin Gastroenterol. Hepatol.** v. 7, p. 452–455, 2009.

TANNOCK, G. W. New perceptions of the gut microbiota: Implications for future research. **Gastroenterol Clin N Am**, v. 34, n. 3, p. 361–382, 2005.

TASSON, L.; CANOVA, C.; VETTORATO, M. G.; SAVARINO, E.; ZANOTTI, R. Influence of Diet on the Course of Inflammatory Bowel Disease. **Dig Dis Sci**. v. 62, p. 2087–2094, 2017.

THOMPSON-CHAGOYÁN, O. C.; MALDONADO, J.; GIL, A. Colonization and impact of disease and other factors on intestinal microbiota. **Dig Dis Sc**, v. 52, n. 9, p. 2069–2077, 2007.

THYMAN, T. et al. Carbohydrate maldigestion induces necrotizing enterocolitis in preterm pigs. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, n. 16, p. 1115–1125, 2009.

TJONNELAND, A.; OVERVAD, K.; BERGMANN, M. M.; NAGEL, G.; LINSEISEN, J. et al. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. **Gut**. v.58, n. 12, p.1606-11, 2009.

TOJO, R.; SUÁREZ, A.; CLEMENTE, M. G.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M. et al. . Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis. **World J. Gastroenterol**. v.20, p.15163–15176, 2014.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function : Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. **Physiol Rev**, v. 81, n. 3, p. 1031–1064, 2001.

URANGA, J. A.; LÓPEZ-MIRANDA, V.; LOMBÓ, F.; ABALO, R. Food, nutrients and nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease. **Pharmacological Reports**. v. 68, n., 4, 2016.

VARELA, E.; MANICHANH, C.; GALLART, M. et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis, **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v. 38, n. 2, p. 151–161, 2013.

VAZEILLE, E.; BUISSON, A.; BRINGER, M. A. et al. Monocyte-derived macrophages from Crohn's disease patients are impaired in the ability to control intracellular adherent-invasive *Escherichia coli* and exhibit disordered cytokine secretion profile. **J Crohns Colitis**. v.9, p.410–20, 2015.

VICTORIA, C. R.; SASSAKI, L. Y.; NUNES, H. R. DE C. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil. **Arq Gastroenterol**, v. 46, n. 1, p. 20–25, 2009.

VOGT, S. L.; PEÑA-DÍAZ, J.; FINLAY, B. B. Chemical communication in the gut: Effects of microbiota-generated metabolites on gastrointestinal bacterial pathogens. **Anaerobe**, v. 34, n. 2015, p. 106–115, 2015.

VON SCHILLDE, M. A.; HÖRMANNSPERGER, G.; WEIHER, M.; ALPERT, C. A.; HAHNE, H. et al. Lactocepin secreted by *Lactobacillus* exerts anti-inflammatory effects by

selectively degrading proinflammatory chemokines. **Cell Host Microbe**, v.11, p.387–396, 2012.

WANG, W. et al. Increased Proportions of Bifidobacterium and the Lactobacillus Group and Loss of Butyrate-Producing Bacteria in Inflammatory Bowel. **J Clin Microbiol**, v. 52, n. 2, p. 398–406, 2014.

WATTERLOT, L. et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **PNAS**, v. 105, n. 43, p. 16731–16736, 2008.

WILLING, B.; HALFVARSON, J.; DICKSVED, J.; ROSENQUIST, M.; JÄRNEROT, G.; ENGSTRAND, L.; TYSK, C.; JANSSEN, J. K. Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 15, p. 653–660, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Child Growth Standards based on length/height, weight and age. **Acta Paediatr Suppl**, n. 450, p. 76-85, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, [S. l.], v. 85, p. 660-667, 2007

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. **World Gastroenterology Organisation global guidelines inflammatory bowel disease**. 2015. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org>>.

WU, G. D. et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. **Science**, v. 334, n. 6052, p. 105–108, 2011.

XU, H.; JEONG, H. S.; LEE, H. Y.; AHN, J. Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains. **Lett. Appl. Microbiol.**, v.49, p.434–442, 2009.

YARZA, P. et al. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. **Nat Rev Microbiol**, v. 12, n. 9, p. 635–645, 2014.

YATSUNENKO, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 222–227, 2012.

YOUN, J.; LEE, J. S.; NA, H. K.; KUNDU, J. K.; SURH, Y. J. Resveratrol and piceatannol inhibit iNOS expression and NF-kappaB activation in dextran sulfate sodium-induced mouse colitis. **Nutr Cancer**, v. 61, p. 847–54, 2009.

ZACHOS, M.; TONDEUR, M.; GRIFFITHS, A. M. Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 24, n.1, 2007.

ZAKOSTELSKA, Z.; KVERKA, M.; KLIMESOVA, K.; ROSSMANN, P. et al. Lysate of probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 ameliorates colitis by strengthening the gut barrier function and changing the gut microenvironment. **PLoS One**. v. 6, p.e27961, 2011.

ZE, X. et al. *Ruminococcus bromii* is a keystone species for the degradation of resistant starch in the human colon. **The ISME Journal**, v. 6, n. 8, p. 1535–1543, 2012.

ZHANG, Y. Z.; LI, Y. Y. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. **World J Gastroenterol**. v. 20, p. 91–99, 2014.

ZHERNAKOVA, A.; KURILSHIKOV, A.; BONDER, M. J. et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. **Science**, v. 352, n.6285, p.565-569, 2016.

ZOETENDAL, E. G. et al. Molecular microbial ecology of the gastrointestinal tract: from phylogeny to function. **Curr Issues Intestinal Microbiol**, v. 5, n. 2, p. 31–47, 2004.

ZOETENDAL, E. G.; RAJILIC-STOJANOVIC, M.; DE VOS, W. M. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. **Gut**, v. 57, n. 11, p. 1605–1615, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

TÍTULO DA PESQUISA - MICROBIOTA FECAL E DIETA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Introdução. O Sr. (Sr.^a) está sendo convidada a participar dessa pesquisa, que tem como pesquisadores a nutricionista Júllia Santos de Souza (CRN 10777) e as gastroenterologistas pediátricas Prof.^a Dr.^a Kátia Galeão Brandt (CRM 3640) Michela Cynthia da Rocha Marmo (CRM 13691) pesquisa que tem como finalidade analisar a frequência de determinados microrganismos na microbiota intestinal de crianças e adolescentes com doenças inflamatória intestinal e comparar estes achados com os achados em crianças sem doenças intestinais. E ainda, ver a frequência de consumo alimentar dos últimos seis meses de ambas as populações.

A doença inflamatória intestinal é uma doença que ocorre em adultos e crianças, tendo dois tipos principais: a doença de Crohn e a retocolite ulcerativa. Quando ocorre em crianças pode ter evolução mais agressiva com complicações, como necessidades de cirurgias. Estas características da doença inflamatória intestinal em crianças estão associadas com defeitos genéticos que podem levar à inflamação do intestino típica da doença. Entender estas alterações genéticas pode trazer informações relacionadas à evolução da doença e resposta ao tratamento. Em alguns países já existem estudos que descrevem as alterações genéticas da população de crianças e adultos com doença inflamatória intestinal, aqui no Brasil existem poucos estudos sobre o assunto.

Se decidir participar desta pesquisa, é importante que você leia as informações a seguir, ou poderemos ler juntos. Se houver alguma palavra ou trecho que não esteja claro, estou à disposição para responder e esclarecer qualquer dúvida.

Procedimentos, riscos, desconfortos. Concordando em participar desse estudo, primeiro o Sr. (Sr.^a) responderá a um formulário, cujas perguntas serão feitas por mim, sobre

a história da doença do seu filho e sobre os hábitos alimentares dos últimos 6 meses. O prontuário do seu filho também será consultado. Mas, todas estas informações serão mantidas em sigilo absoluto, guardadas em um armário próprio, com chave, o qual só os pesquisadores principais terão acesso.

Para a análise da microbiota, será necessária coleta de fezes, a qual será entregue no momento da entrevista um frasco para coleta da amostra com instruções de como proceder com esta amostra até a entrega. Para análise dessas amostras, o material utilizado será armazenado no Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami, até o momento da análise.

Benefícios da pesquisa. O Sr. ou a Sr.^a estará contribuindo para sabermos se há alterações da microbiota associadas à doença inflamatória intestinal nos pacientes que acompanhamos neste hospital. Caso estas alterações estejam presentes este conhecimento poderá nos esclarecer dúvidas em relação ao curso da doença destas crianças e poderá, também, colaborar para outros estudos futuros. Se houver alguma alteração da microbiota com influência na doença do seu filho, você será comunicado durante as consultas médicas ou por telefone pelo próprio pesquisador e as condutas possíveis e cabíveis relacionadas ao tratamento serão tomadas.

Decisão de participar, não participar ou desistir. O Sr ou a Sr.^a como convidados e voluntários desta pesquisa, possui total liberdade para aceitar ou recusar-se a participar, tendo também o direito de desistir da participação da pesquisa em qualquer momento. A sua recusa ou desistência não lhe trará nenhum prejuízo para o tratamento do seu filho, sendo-lhe assegurada total assistência.

Não existirá nenhuma cobrança de taxa ou recompensa financeira para os participantes desta pesquisa.

Em aceitando, o Sr. ou a Sr.^a receberá uma cópia deste Termo de Consentimento, da qual consta meu telefone (996321025) e o meu *e-mail* (jullia.souza@gmail.com.br) para que possa esclarecer quaisquer dúvidas que venham surgir posteriormente sobre a pesquisa.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Pelo presente instrumento, declaro que li, ou o médico (_____) leu por mim, as informações contidas neste documento antes de assiná-lo. Afirmo que fui suficientemente esclarecido sobre os procedimentos a que meu filho será submetido na pesquisa “Microbiota fecal e dieta de crianças e adolescentes portadores de doença inflamatória intestinal” que faz parte do projeto “Doença inflamatória intestinal em crianças e adolescentes: avaliação de polimorfismos genéticos” e nada além do que foi exposto neste

termo com finalidade de avaliar as alterações genéticas associadas a doença inflamatória intestinal. Afirmo que entendo que esta pesquisa é um estudo sério realizado no IMIP e na Universidade Federal de Pernambuco, sem a necessidade de expor o nome do meu filho publicamente. Autorizo a divulgação dos resultados em qualquer evento de caráter científico, inclusive em revistas científicas. Compreendo também que sou livre para desistir em qualquer momento do estudo, sem sofrer nenhum prejuízo por conta disso. Confirmando também que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento. Declaro que não tenho dúvida alguma, pois todas foram devidamente esclarecidas.

Pelo presente, manifesto assim minha concordância e meu livre consentimento para a realização dos procedimentos acima descritos.

Local e data: _____

Nome e assinatura do responsável: _____

Documento de identidade: _____

Testemunha 1 _____

Testemunha 2 _____

Assinatura da pessoa que obteve o consentimento

APÊNDICE B – FOMULÁRIO ESTRUTURADO

QUESTIONÁRIO

Nome:								
Sexo: 1. Masculino () 2. Feminino ()	Data: ____/____/____							
Data nascimento: ____/____/____	Data diagnóstico: ____/____/____							
Idade em meses: _____	Idade de diagnóstico: _____							
Cidade onde mora: _____ 1. Capital () 2. Região metropolitana () 3. Interior ()	Estado: _____							
Renda familiar: _____								
DC: 1. Não () 2. Sim ()								
Atividade DC	1. Não () 2. Sim () 3. Não se aplica ()							
RCU	1. Não () 2. Sim ()							
Atividade RCU	1. Não () 2. Sim () 3. Não se aplica ()							
Sinais e sintomas 1. () Não 2. () Sim	1. Diarreia () 2. Diarreia com sangue () 3. Dor abdominal () 4. Distensão abdominal () 5. Febre () 6. Fissuras () 7. Sangramento retal () 8. Constipação () 9. Perda de apetite () 10. Outros (), quais? _____ _____ 11. () Não se aplica							
Utilização de medicamento: 1. Não () 2. Sim () Quais? _____ _____								
Tipo: 1. Anti-inflamatório () 2. Imunossupressor () 3. Corticoide () 4. Antibiótico () 5. Imunobiológico () 6. Não se aplica ()								
Peso: _____ Kg	Estatura: _____ cm							
Laudo da bioimpedância:								
Gordura (%)	Massa magra (kg)							
Gordura (Kg)	Água (L)							
Resistência	Água (%)							
TMR	Hidratação (%)							
Massa magra (%)								
Já teve alguma orientação nutricional?	1. () Não 2. () Sim, Quem orientou? 1. () nutricionista 2. () Médico gastro 3. () Outro profissional 4. () não se aplica							
Se sim, cumpre esta recomendação?	1. () Não 2. () Sim 3. () Não se aplica							
QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR								
Assinale com um X a frequência de cada alimento que a criança consumiu nos últimos 6 meses								
Cereais, pães, tubérculos/ Arroz, Pão, Massa, Batata	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia	
Arroz cozido								
Batata cozida/purê								

Batata frita							
Biscoitos sem recheio - Maizena®, Maria®, leite, água e sal, cream cracker							
Biscoitos com recheio							
Cereal matinal tipo sucrilhos®							
Macarrão cozido ao sugo							
Macarrão cozido sem molho							
Macarrão instantâneo tipo Miojo®							
Massas (lasanha/raviolo/capeleti)							
Pão Frances/forma/integral/hot dog							
Espectante (Maisena®, Farinha Láctea®, Mucilon®, Cremogema®)							
Cuscuz de milho cozido							
Batatas fritas de palito							
Macaxeira cozida							
Inhame cozido							
Farofa de farinha de mandioca							
Feijão	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Feijão verde/macassar							
Feijão mulatinho/preto							
Verduras e Legumes	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Abóbora							
Alface							
Acelga/repolho/couve							
Tomate							
Cenoura							
Chuchu							
Couve-flor							
Beterraba							
Espinafre/couve-folha							
Ervilha							
Milho verde							
Pepino							
Frutas	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Banana							
Maça/Pera							
Laranja/mexerica							
Morango							
Mamão							
Goiaba							
Abacate							
Abacaxi							
Melão/Melancia							
Manga							
Uva							
Suco de fruta sem açúcar							
Suco da fruta com açúcar							
Carnes e Ovos	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia

Bife frito/bife a milanesa							
Carne cozida(bife/moída/de panela/picadinho)							
Salsicha/linguiça							
Presunto/peito de peru, mortadela, salame							
Bife de fígado de boi							
Frango cozido/assado/grelhado/frito							
Peixe (cozido, frito)							
Ovo (frito, cozido), omelete com 1 ovo							
Carne porco (bisteca/lombo)							
Leite, Queijo, Iogurte	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Leite, Queijo, Iogurte	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Leite integral							
Leite desnatado							
Iogurte de natural/frutas							
Danoninho [®] /Chambinho [®]							
Leite fermentado tipo Yakult [®] , Chamyto [®]							
Queijo prato/mussarela/coalho							
Requeijão							
Açúcar, Doces e Salgadinhos	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Açúcar							
Achocolatado em pó/líquido							
Bolo comum/chocolate							
Chocolate/bombom/Brigadeiro							
Doces de frutas (goiabada)							
Salgadinho (fandangos/pipo's)/Batata chips							
Sorvete/picolé							
Pipoca estourada (sem ser de microondas)							
Pipoca de microondas ou industrializada (Bockus)							
Salgados e Preparações	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Sopa com carne (e legumes, feijão, macarrão)							
Sopa sem carne (feijão, legumes)							
Coxinha,risóis,pastel,enroladinho frito/queijo/Pão de queijo							
Pizza							
Sanduíche (misto, queijo/frios ou quentes)							
Cheeseburger de carne/frango							
Sanduíche natural							
Cachorro quente							
Bebidas	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Refrigerante							
Suco artificial (tipo Tang [®] ou de caixa)							
Vitaminas de frutas							
Óleos e gorduras	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia

Maionese tradicional							
Manteiga/margarina							
Azeite de oliva							
Outros	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Adoçante gotas/pó							
Molho de tomate							

Fonte: Colucci, A.C.A; Slater, B; Philippi, S.T. 2004; Slater B, Philippi ST, Fisberg RM, Latorre MR., 2003
Adaptação.

ANEXOS

ANEXO A – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR DE CRIANÇAS DE 2 A 5 ANOS

Assinale com um X a frequência de cada alimento que a criança consumiu nos últimos 6 meses							
Alimento	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Arroz, Pão, Massa, Batata							
Arroz cozido (3 colheres de sopa)							
Batata cozida/purê (1 colher de servir)							
Batata frita (1 escumadeira)							
Biscoitos sem recheio - Maizena®, Maria®, leite, água e sal (3 a 4 unids)							
Biscoitos com recheio – chocolate, waffer (3 unids)							
Cereal matinal tipo sucrilhos® (1 xícara)							
Macarrão cozido ao sugo (1 escumadeira)							
Macarrão instantâneo tipo Miojo® (1/3 do pacote)							
Pão francês/forma/bisnaguinha (1/2 unid/1 fatia/1 unid)							
Espressante (Maisena®, Farinha Láctea®, Mucilon®, Cremogema®)							
Feijão	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Feijão (1/2 concha)							
Verduras e Legumes	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Abóbora (2 colheres de sopa)							
Alface (2 folhas)							
Acelga/repolho/couve (1 colher de sopa)							
Tomate (3 fatias)							
Molho de tomate (1 colher de sopa)							
Cenoura (1/2 colher de servir)							
Chuchu (1 colher de sopa)							
Mandioquinha (1/2 colher de sopa)							
Frutas	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Banana (1 unid)							
Maça/Pera (1 unid)							
Laranja (1 unid)							
Suco de laranja (1/2 copo)							
Suco de outras frutas – maracujá, abacaxi (1/2 copo)							
Mamão (1 fatia)							
Goiaba (1/2 unid)							
Carnes e Ovos	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Bife (1 unid)							
Carne cozida (panela/moída) (1/2 fatia/ 3 colheres de sopa)							
Lingüiça/Salsicha (1/2 gomo/ 1 unid)							
Presunto/Mortadela (1 fatia)							
Bife de fígado de boi (1 unid)							
Frango (cozido, frito, grelhado, assado) (1 pedaço/ 1 unid)							
Peixe (cozido, frito) (1/2 filé/ 1/2 pedaço)							
Ovo (frito, cozido), omelete com 1 ovo (1 unid/ 1 omelete)							
Leite, Queijo, Iogurte	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Leite fluido integral/Leite em pó integral diluído (1 xícara)							
Iogurte de frutas (1 pote)							
Danoninho®/Chambinho® (1 pote)							
Leite fermentado tipo Yakult®, Chamyto® (1 frasco)							
Margarina/Manteiga (1 colher de chá)							
Queijo prato/mussarela (1 fatia)							
Requeijão (1 colher de sobremesa)							
Açúcar, Doces e Salgadinhos	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Açúcar (1 ½ colher de sobremesa)							
Achocolatado em pó (Nescau®, Toddy®) (1 ½ colher de sobremesa)							
Bolo comum/chocolate (1 fatia)							
Chocolate/bombom (1 unid)							
Salgadinho/Batata chips (1 pacote pequeno)							
Salgados e Preparações	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Risoto/Polenta (1 colher de servir/ 1 fatia)							
Sopa com carne (e legumes, feijão, macarrão) 1/2 prato							
Sopa sem carne (e legumes, feijão, macarrão) 1/2 prato							
Salgados (pão de queijo, pastel, coxinha, esfiha) (1 unid pequena)							
Pizza (1/2 fatia)							
Sanduíche (misto, hambúrguer simples) (1/2 unid)							
Bebidas	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Café com açúcar (1 xícara)							
Refrigerante (1/2 copo)							
Suco artificial (tipo Tang®) (1/2 copo)							
Chá industrializado (1/2 copo)							
Água (1/2 copo)							
Outros	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia

Fonte: Colucci, A.C.A.; Slater, B; Philippi, S.T., 2004

ANEXO B – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR DE ADOLESCENTES

Doces, salgadinhos e guloseimas	N	<1m	1 a 3x m	1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Batatinha tipo chips ou salgadinho (1/2 pacote grande)							
Chocolate/Brigadeiro (1 tablete/1 barrinha peg/3 unids peg)							
Bolo comum/Bolo Pullman (1 fatia média)							
Sorvete massa/palito (2 bolas/1 unid)							
Achocolatado em pó (Nescau, etc) (2 c. de sopa rasa)							
Pipoca estourada (doce ou salgada) (1 saco médio)							
Açúcar adicionado em café, leite etc (2 c. de sobremesa)							
Balas (2 unids)							
Doces de frutas (goiabada) (1 fatia fina/1 ped pequeno)							
Sobremesas tipo mousse (1 taça/ 1 pote)							
Croissant de chocolate (1 unid média)							
Salgados e preparações	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Chesebúrguer de carne/frango (1 sanduíche)							
Sanduíche (misto, queijo, frios ou quentes) (1 sanduíche)							
Sanduíche natural (1 sanduíche)							
Coxinha,risólis,pastel,enroladinho frito presunto/queijo (1 unid média)							
Pão de queijo (1 unid média)							
Esfiha/empada/ enroladinho assado de presunto/queijo (1 unid média)							
Salada de batata com maionese (1 colher de servir)							
Sopa (canja, feijão, legumes) (1 prato fundo)							
Farofa de farinha de mandioca (1 colher de servir)							
Pizza (1 fatia média)							
Cachorro quente (1 sanduíche)							
Croissant presunto e queijo (1 unid média)							
Leite e produtos lácteos	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Leite integral (1 copo cheio)							
Leite desnatado (1 copo cheio)							
Leite fermentado (1 garrafinha)							
Iogurte natural/frutas (1 pote)							
Iogurte diet (1 pote)							
Queijo minas frescal/ricote/cottage (1 fatia média)							
Requeijão (1 colher de sopa)							
Óleos e gorduras	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Maionese tradicional (1 colher de sopa)							
Manteiga (1 ponta de faca)							
Margarina (ponta de faca)							
Azeite de oliva (1 colher de café)							
Cereais, pães e tubérculos	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Arroz cozido (4 c. sopa/1 ½ c. de servir/1 escumad.grande)							
Macarrão/instantâneo/ao sugo/manteiga (3c.de servir/pegador)							
Massas (lasanha/raviolo/capeleti) (1 pedaço médio/1 prato raso)							
Biscoitos sem recheio/cream craker (15 unids)							
Biscoitos com recheio (7 unids)							
Pão Frances/forma/integral/hot dog (1 ½ unid/3 fatias)							
Cereal matinal tipo Sucrilhos/ Barra de cereal (1 xic chá/1 unid)							
Batatas fritas de palito (1 saco peg/ 1 c. de servir)							
Batatas (purê/sauté) 1 colher de servir							
Polenta (cozida ou frita) (5 c. sopa)							
Mandioca cozida (2 pedaços médios)							
Pamonha doce/salgada (1 unid média)							
Verduras e Legumes	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Alface (6 folhas médias)							
Acelga/repolho (2 colheres de servir)							
Agrião/rúcula (3 ramos/5 folhas médias)							
Couve-flor (2 ramos médios)							
Beterraba (1 colher de servir)							
Cenoura (1 colher de servir)							
Espinafre/couve (1 colher de servir)							
Ervilha (2 colheres de sopa)							
Milho verde (1 colher de sopa)							
Pepino (6 fatias médias)							
Tomate (3 fatias médias)							
Frutas	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Abacate (1/2 unid)							
Abacaxi (1 fatia média)							
Banana (1 unid média)							
Laranja/mexerica (1 unid média)							
Maçã/Pera (1 unid média)							
Mamão (1 fatia média)							
Melão/Melancia (1 fatia média)							
Manga (1/2 unid média)							
Morangos (1/2 xícara de chá)							
Uva (1 cacho médio)							
Feijão	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Feijão (marrom ou preto) (1 ½ concha média)							
Carnes e Ovos	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Carne cozida(bife/moída/de panela/picadinho) 1 fatia média/1c. de servir/1unid média							

Bife frito/bife a milanesa (1 unid média)							
Frango cozido/assado/grelhado/frito (1 ped. médio/1 unid média)							
Peixe frito (1 filé médio/posta)							
Carne suína (bisteca/lombo) (1 unid média/1 fatia média)							
Ovo frito/mexido/omelete (1 unid média)							
Embutidos (presunto/peito de peru, mortadela, salame) (2 fatias médias)							
Salsicha (1 ½ unidade)							
Linguiça (1 gomo médio)							
Bebidas	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Refrigerante normal (1 lata)							
Refrigerante diet (1 lata)							
Chá mate com sabor (1 lata)							
Suco de abacaxi com açúcar (1 copo de requeijão)							
Suco de laranja com açúcar (1 copo de requeijão)							
Suco de mamão com açúcar (1 copo de requeijão)							
Suco de melão/melancia com açúcar (1 copo de requeijão)							
Limonada/Laranjada com açúcar (1 copo de requeijão)							
Sucos naturais com leite/Vitaminas de frutas (1 copo de requeijão)							
Sucos artificiais (1 copo de requeijão)							
Café (1 xícara de café pequena)							
Cerveja (1 copo médio)							
Vinho (1 copo médio)							
Batida (1 copo médio)							
Água (1 copo de requeijão)							
Chimarrão (1 cuia)							
Outros	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia
Adoçante gotas/pó							
Não mencionados	N	<1m		1 sem	2 a 4 sem	1 dia	2 ou + dia

Fonte: Slater B, Philippi ST, Fisberg RM, Latorre MR, 2003