

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**Paula Valladares Póvoa Guerra**

**AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO  
TRATAMENTO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
COM CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA  
FUNCIONAL NÃO COMPLICADA: UM ESTUDO  
RANDOMIZADO E DUPLO MASCARADO**

**Belo Horizonte**

**2010**

**Paula Valladares Póvoa Guerra**

**AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO  
TRATAMENTO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
COM CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA  
FUNCIONAL NÃO COMPLICADA: UM ESTUDO  
RANDOMIZADO E DUPLO MASCARADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Elizabet Vilar Guimarães.

Co-Orientador: Prof. Jacques Robert Nicoli.

**Belo Horizonte**

**2010**

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Ronaldo Tadêu Pena

**Vice-Reitora:** Profa. Heloisa Maria Murgel Starling

**Pró-Reitor de Pós-Graduação:** Prof<sup>a</sup>. Elizabeth Ribeiro da Silva

**Pró-Reitor de Pesquisa:** Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

### **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Francisco José Penna

**Vice-Diretor:** Prof. Tarcizo Afonso Nunes.

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. Carlos Faria Santos Amaral

**Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. João Lúcio dos Santos Jr.

**Chefe do Departamento de Pediatria:** Prof<sup>a</sup>. Maria Aparecida Martins

### **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

#### **Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente**

**Coordenador:** Prof. Joel Alves Lamounier

**Subcoordenador:** Prof<sup>a</sup>. Ana Cristina Simões e Silva

#### **Colegiado:**

Prof<sup>a</sup>. Ivani Novato Silva

Prof. Jorge Andrade Pinto

Prof<sup>a</sup>. Lúcia Maria Horta Figueiredo Goulart

Prof<sup>a</sup>. Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof<sup>a</sup>. Regina Lunardi Rocha

Gustavo Sena Sousa (Repr. Discente)

Ao Rodrigo,  
Que sempre acreditou, apoiou e que dá sentido a tudo que faço.

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Elizabet Vilar Guimarães, por todo ensinamento, conhecimento e incentivo.

Ao Prof. Jacques Nicoli, pela co-orientação, por me incentivar no aprendizado dos probióticos.

À equipe de Gastroenterologia Pediátrica, em especial ao Prof. Alexandre Rodrigues Ferreira e Prof. Francisco Penna, por todo apoio e incentivo.

À Equipe do Laboratório de Microbiologia do ICB-UFMG, em especial à Tássia, por me ensinar, acreditar, acalmar e trabalhar muito para que tudo fosse possível.

As alunas Luiza Noronha e Débora, pela participação na pesquisa.

À Vanessa e ao José Osvaldo, pelo apoio na pesquisa e produção do iogurte.

Aos alunos, pais, professores e funcionários do IEMG que carinhosamente me receberam e participaram da pesquisa.

Aos colegas de pós-graduação, pelos momentos de incertezas e de alegrias.

Ao meu pai e irmãos por tudo que superamos juntos. Ao Guigui pelas alegrias.

À Fátima, pela ajuda e incentivo.

À minha mãe e avó, pelas presenças mesmo nas ausências.

Ao Rodrigo, em especial, maior responsável para que tudo desse certo. Pelo amor, apoio, companheirismo e ajuda incondicional. Razão de tudo. Nós conseguimos. Amo-te hoje e sempre.

## NOTA EXPLICATIVA

A presente dissertação segue as orientações do Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e será apresentada em duas partes, sob a forma de dois artigos científicos.

A primeira parte refere-se ao artigo de revisão e seguirá as normas da Revista Médica de Minas Gerais (<http://rmmg.medicina.ufmg.br/index.php/rmmg/about/submissions#authorGuidelines>), de conformidade com os “Requisitos Uniformes para Revisões Submetidas a Revistas Biomédicas”, publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas.

O segundo artigo é original e será submetido ao periódico Jornal de Pediatria. As normas de publicação deste periódico encontram-se no endereço eletrônico: [www.jpmed.com.br/port/normas/normas\\_07.asp](http://www.jpmed.com.br/port/normas/normas_07.asp).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |                                          |
|--------|------------------------------------------|
| CIC    | Constipação intestinal crônica           |
| CICF   | Constipação intestinal crônica funcional |
| CI     | Constipação intestinal                   |
| HC     | Hospital das Clínicas                    |
| UFMG   | Universidade Federal de Minas Gerais     |
| EAI    | Esfíncter anal interno                   |
| LM     | Leite materno                            |
| TGI    | Trato gastrointestinal                   |
| UFC    | Unidade formadora de colônia             |
| ECR    | Ensaio clínico randomizado               |
| Lcr 35 | <i>Lactobacillus casei rhamnosus</i>     |
| MG     | Minas Gerais                             |

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Gráficos

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1 – Distribuição por sexo nas faixas etárias.....                                                     | 47 |
| Gráfico 2 – Evolução da Distribuição das porcentagens das fezes duras para cada sequência de intervenção..... | 48 |
| Gráfico 3 – Evolução das medianas da frequência evacuatória para cada sequência de intervenção.....           | 50 |

### Quadros

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1 – Critérios diagnósticos para CICF em menores de 4 anos.....   | 16 |
| Quadro 2 – Critérios diagnósticos para CICF em maiores de 4 anos.....   | 17 |
| Quadro 3 – Critérios para definição de um microrganismo probiótico..... | 22 |
| Quadro 4 – Estudos dos probióticos na CI em adultos.....                | 26 |
| Quadro 5 – Estudos dos probióticos na CI em crianças.....               | 29 |

### Fluxograma

|                              |    |
|------------------------------|----|
| Fluxograma do protocolo..... | 45 |
|------------------------------|----|



## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Características da população estudada.....                                                              | 46 |
| Tabela 2 – Comparações da consistência das fezes entre as intervenções placebo e probiótico para cada momento..... | 49 |
| Tabela 3 – Evolução das variáveis dor para evacuar e dor abdominal para cada sequência de intervenção .....        | 50 |
| Tabela 4 – Comparação placebo vs probiótico para frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal.....     | 51 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 ARTIGO DE REVISÃO – Uso de probióticos na constipação intestinal da criança.....                                                                                                         | 12 |
| 1.1 Introdução.....                                                                                                                                                                        | 15 |
| 1.2 Constipação intestinal: Conceito, classificação e epidemiologia.....                                                                                                                   | 16 |
| 1.3 Fisiopatologia.....                                                                                                                                                                    | 17 |
| 1.4 Tratamento.....                                                                                                                                                                        | 19 |
| 1.5 Microbiota intestinal e constipação intestinal.....                                                                                                                                    | 20 |
| 1.6 Probióticos.....                                                                                                                                                                       | 22 |
| 1.6.1 Mecanismos de ação.....                                                                                                                                                              | 23 |
| 1.6.2 Usos.....                                                                                                                                                                            | 23 |
| 1.6.3 Doses.....                                                                                                                                                                           | 24 |
| 1.6.4 Riscos e contraindicações.....                                                                                                                                                       | 24 |
| 1.7 Probióticos e a constipação intestinal.....                                                                                                                                            | 24 |
| 1.8 Estudos sobre o uso de probióticos no tratamento da CI.....                                                                                                                            | 25 |
| 1.8.1 Uso de probióticos no tratamento da CI em adultos.....                                                                                                                               | 25 |
| 1.8.2 Uso de probióticos no tratamento da CI em crianças.....                                                                                                                              | 26 |
| 1.9 Limitações dos estudos sobre probióticos e CIC.....                                                                                                                                    | 30 |
| 1.10 Conclusão.....                                                                                                                                                                        | 31 |
| Referências.....                                                                                                                                                                           | 32 |
| <br>                                                                                                                                                                                       |    |
| 2 ARTIGO ORIGINAL- Avaliação do uso de probiótico no tratamento de crianças e adolescentes com constipação intestinal crônica não complicada: um estudo randomizado e duplo mascarado..... | 36 |
| 2.1 Introdução.....                                                                                                                                                                        | 39 |
| 2.2 Métodos.....                                                                                                                                                                           | 40 |
| 2.2.1 Desenho do estudo.....                                                                                                                                                               | 40 |
| 2.2.2 Seleção e randomização.....                                                                                                                                                          | 40 |
| 2.2.3 Participantes.....                                                                                                                                                                   | 40 |
| 2.2.4 Protocolo.....                                                                                                                                                                       | 42 |

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.5 Análise estatística.....                                                                               | 44 |
| 2.2.6 Aspectos éticos.....                                                                                   | 44 |
| 2.3 Resultados.....                                                                                          | 44 |
| 2.3.1 Casuística.....                                                                                        | 45 |
| 2.3.2 Consistência das fezes.....                                                                            | 47 |
| 2.3.3 Comparação da consistência das fezes.....                                                              | 48 |
| 2.3.4 Frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal<br>.....                                      | 49 |
| 2.3.5 Comparação placebo vs probiótico para frequência evacuatória, dor para<br>evacuar e dor abdominal..... | 51 |
| 2.4 Segurança e tolerância.....                                                                              | 52 |
| 2.5 Discussão.....                                                                                           | 52 |
| 2.6 Conclusão.....                                                                                           | 56 |
| Referências.....                                                                                             | 57 |
| <br>                                                                                                         |    |
| APÊNDICE 1 Escala de Bristol.....                                                                            | 60 |
| Folha de defesa.....                                                                                         | 61 |
| Ata de defesa.....                                                                                           | 62 |

**1 ARTIGO DE REVISÃO**

**USO DE PROBIÓTICOS NA CONSTIPAÇÃO  
INTESTINAL DA CRIANÇA**

## USO DE PROBIÓTICOS NA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL DA CRIANÇA

### Resumo

**Objetivo:** Popularmente, pacientes têm creditado a melhora da constipação intestinal ao uso de alimentos industrializados que contém probióticos. Estudos têm sido realizados em crianças e adultos. Porém, ainda questiona-se a eficácia dos probióticos na constipação, principalmente na faixa etária pediátrica. O objetivo desse artigo é proporcionar uma revisão atualizada sobre o uso de probióticos no tratamento da constipação intestinal crônica funcional da criança.

**Método:** Foi realizada revisão não sistematizada da literatura médica internacional nos *sites* do Medline. Utilizaram-se os seguintes descritores: “*constipation*”, “*microbiota*”, “*probiotics*”, “*gastrointestinal disorders*”, “*child*” e “*randomised controlled trial*”. **Resultados:** Até o momento, existem poucos estudos avaliando probiótico e constipação intestinal principalmente em crianças. Mesmo incluindo publicações em adultos, o número de participantes envolvidos ainda é pequeno e há limitações metodológicas em vários estudos. **Conclusão:** Não há evidências suficientes comprovando a eficácia dos probióticos na constipação intestinal, principalmente em crianças. Porém, os resultados encorajam a realização de novos ensaios clínicos randomizados placebo controlado.

Palavras-chave: Constipação intestinal, probióticos, crianças.

## USE OF PROBIOTIC IN CHILDREN WITH CONSTIPATION

### Abstract

**Objective:** Popularly patients have credited improvement of constipation in products that contain probiotics. Researchers have been made in adults and children. Until now, there is uncertainty regarding the use of probiotics for the treatment of constipation, mainly in children. The aim of this article is to evaluate and update evidence on the efficacy of the use of probiotics in children with functional constipation. **Data Sources:** A non systematic review of the international medical literature was carried out through the sites Medline. The used descriptors were as follows: “*constipation*”, “*probiotics*”, “*gastrointestinal disorders*”, “*child*” e “*randomised controlled trial*”. **Data synthesis:** Until now, there are few studies of probiotics in constipation mainly in children. Even if studies in adults are included, the number of participants is low and there are methodological problems in some of those researchers. **Conclusions:** There is not sufficient evidence to support the effectiveness of probiotics in constipation mainly in children. However, the results encourage new randomised controlled trials.

Key-words: constipation; probiotics; infants;

## 1.1 Introdução

A constipação intestinal crônica (CIC) constitui problema comum na criança.<sup>1,2</sup> Na maioria dos casos, não há uma causa orgânica associada, sendo a CIC denominada funcional. A etiologia da CIC funcional (CICF) envolve fatores constitucionais e biopsicossociais. Apesar dos avanços dos estudos, a importância de cada mecanismo não é bem estabelecida.<sup>3</sup> O tratamento atual é baseado em orientações dietéticas, comportamentais e medicamentosas.<sup>4</sup> Entretanto, o sucesso terapêutico alcançado situa-se em torno de 60%, justificando a busca de novas opções.<sup>5,6</sup> Recentemente os probióticos têm sido incluídos nessa abordagem.<sup>7,8</sup>

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidade apropriada, conferem efeito benéfico na saúde do hospedeiro.<sup>7,9,10</sup> São citados os usos no tratamento da diarreia aguda, enterocolite necrosante, doenças inflamatórias intestinais e CICF.<sup>7,8</sup> O mecanismo de ação na CI envolve a disbiose da microbiota intestinal em pacientes constipados e na possível melhora da motilidade intestinal proporcionada pelos probióticos.<sup>11,12</sup>

Popularmente, pacientes têm creditado a melhora da constipação ao uso de alimentos industrializados que contém probióticos. Estudos têm sido realizados para avaliar o uso desses no tratamento da CICF em crianças e adultos. Porém, questiona-se a eficácia dessa abordagem, principalmente na faixa etária pediátrica.<sup>7, 8,12</sup>

Portanto, o objetivo desse artigo é proporcionar uma revisão sobre o uso de probióticos no tratamento da CICF da criança. Para uma melhor compreensão do tema será feita primeiramente uma revisão sobre a CICF e sobre os probióticos.

## 1.2 Constipação intestinal: Conceito, classificação e epidemiologia

A constipação intestinal (CI) constitui problema comum em Pediatria. Consiste na eliminação de fezes com frequência inferior a três vezes por semana (exceção aos lactentes em aleitamento materno exclusivo), e/ou fezes endurecidas com ou sem sensação de esvaziamento incompleto do reto. São também considerados presença de dor e ou esforço evacuatório, eliminação esporádica de fezes volumosas “que entopem o vaso”, dor abdominal e escape fecal.

A CI pode ser classificada de acordo com a evolução em aguda ou crônica. A primeira ocorre durante ou após mudanças do hábito alimentar, estado mórbido ou viagem. A crônica é dividida em funcional e orgânica. Esta última pode ser secundária a anormalidades estruturais do trato gastrointestinal, doenças extra-intestinais e uso de medicamentos. A maioria dos casos se enquadra na CICF, sem causa secundária associada.<sup>1,2</sup>

Existem outras definições envolvendo os sinais e sintomas de CIC. Para a criação de uma linguagem científica comum, desde 1999, o Comitê de Coordenação do Roma II incluiu uma equipe de Pediatria para discussão dos critérios de diagnóstico das doenças gastrointestinais funcionais em crianças. No Consenso Roma III, houve uma revisão para uma melhor abordagem dessas patologias.<sup>3,4</sup> Para o diagnóstico da CICF são utilizadas as características abaixo:

- Para crianças com idade inferior a quatro anos, devem ser considerados, em um mês, pelo menos 2 dos seguintes critérios descritos abaixo (quadro 1):

### QUADRO 1

---

#### *Crítérios diagnósticos para CICF em menores de 4 anos*

---

- duas ou menos defecações/semana;
  - um episódio/semana de incontinência fecal após aquisição de controle de esfíncter;
  - história de retenção fecal excessiva;
  - presença de movimentos intestinais dolorosos;
  - presença de grande massa fecal no reto e
  - história de fezes de calibre aumentado que podem obstruir o vaso sanitário.<sup>4</sup>
-



- Para crianças com idade de desenvolvimento superior a quatro anos, devem ser incluídos 2 ou mais dos critérios, citados abaixo (quadro 2), ocorrendo pelo menos uma vez por semana nos últimos dois meses:

## QUADRO 2

---

### *Crterios diagnsticos para CICF em maiores de 4 anos*

---

- duas ou menos defecaes no banheiro/semana
  - pelo menos um episdio de incontinncia/semana;
  - histria de postura retentiva ou reteno fecal voluntria excessiva;
  - presena de movimentos intestinais dolorosos;
  - presena de grande massa fecal no reto e
  - histria de fezes de calibre aumentado que podem obstruir o vaso sanitrio.<sup>4</sup>
- 

No Brasil, a prevalncia da CI varia entre 14.7 a 38.4%.<sup>1</sup> Em um levantamento realizado no Ambulatrio Geral de Pediatria no Hospital das Clnicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) encontrou-se prevalncia de 22%.<sup>3</sup>

A freqncia   variável entre os sexos, dependendo da faixa etária. Alguns estudos demonstram que é mais comum em meninos.<sup>2</sup> Porém, há estudos em escolares com uma maior freqncia no sexo feminino.<sup>1</sup> Geralmente ocorre melhora até os 16 anos podendo persistir na vida adulta. Em adolescentes e adultos é mais comum no sexo feminino.<sup>2</sup>

### **1.3 Fisiopatologia**

A defeca o é um processo fisiológico complexo, sendo necessário o entendimento da fisiologia para uma melhor abordagem da CI.<sup>3</sup>

As principais funes do cólon são: absoro de água e eletrólitos, conduo das fezes, a partir do delgado e armazenamento dessas, especialmente no sigmóide, antes da evacuao. A entrada de alimentos no aparelho digestivo acarreta uma série de movimentos gastrointestinais. No intestino grosso, o reflexo gastro c lico gerado após alimentao desencadeia ondas peristálticas originadas no sigmóide proximal que fazem progredir a massa fecal para poroes distais-

interior do reto. Ao chegar à ampola retal, o bolo fecal dilata a parede retal estimulando receptores que determinam o relaxamento do esfíncter anal interno (EAI), denominado reflexo reto anal. Após relaxamento do EAI, ocorre contração voluntária do esfíncter anal externo até a chegada do indivíduo em local apropriado, naqueles com controle de esfíncter estabelecido.<sup>1,2</sup>

A CICF pode alterar a dinâmica de evacuação. Quando as fezes não são eliminadas ocorre a progressiva dilatação da parede retal com diminuição da sua sensibilidade. Pode ocorrer evolução para megacólon funcional pelo acúmulo de fezes no reto. Um ciclo vicioso se instala com eliminação dolorosa de fezes, levando a inibição da defecação através da contração anormal do esfíncter anal e paradoxal do assoalho pélvico (anismo). O EAI torna-se cronicamente distendido e deixa escapar fezes sem que a criança perceba (escape fecal).<sup>1,2</sup>

Na etiologia da CICF observa-se interação de fatores biopsicossociais (ciclo vicioso de dor para evacuar levando ao comportamento de retenção) e fatores constitucionais (dieta pobre em fibras, fissuras anais, proctite associada à alergia de leite de vaca e distúrbios da motilidade digestiva).<sup>1,13</sup>

O papel da alimentação no desencadeamento e perpetuação da CI merece atenção. No primeiro ano de vida ocorrem mudanças marcantes no padrão evacuatório, sendo o leite materno (LM) fator de proteção. A dieta pobre em fibras ocasiona trânsito intestinal lentificado e diminuição do peso das fezes podendo contribuir para gênese da CI.<sup>1</sup>

Os distúrbios da motilidade digestiva são caracterizados por aumento do tempo de trânsito intestinal, especialmente nos cólons. É difícil afirmar se esses podem causar CI ou refletir um maior tempo de trânsito observado nos indivíduos já constipados. Em cerca de metade dos pacientes com CIC ocorre aumento do tempo de trânsito colônico total. Dentre os vários padrões de dismotilidade, tradicionalmente considera-se que a “obstrução” da via de saída seja o mais frequente (retardo do trânsito colônico no sigmóide e no reto). Entretanto, uma parcela de pacientes apresenta aumento do trânsito no cólon direito caracterizando a estase colônica. Pouco se sabe a respeito dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese dos distúrbios da motilidade. Hipoteticamente, o acúmulo de fezes endurecidas levando a distensão do reto e sigmóide poderia comprometer a força contrátil e propulsiva ou mesmo ser acompanhada da ausência de ondas peristálticas colônicas de grande amplitude

responsáveis pela propulsão das fezes em direção ao reto. Essa situação foi descrita em crianças com CI grave refratária.<sup>1,13</sup>

Existem também fatores individuais e familiares que podem estar associados a prováveis distúrbios da motilidade intestinal tendo em vista a elevada frequência de CI entre indivíduos da mesma família. Porém os hábitos alimentares familiares devem ser considerados.<sup>1</sup>

Apesar dos avanços dos estudos, não existe consenso sobre a importância de cada mecanismo na gênese da CI. Entre os distúrbios de motilidade descritos estão: pressão esfinteriana anormalmente alta, falência de relaxamento do EAI, sensibilidade retal alterada, impedimento do relaxamento ou contração paradoxal do EAI e ou músculo puborretal ou combinação de fatores.<sup>3</sup>

#### 1.4 Tratamento

O tratamento da CI tem como objetivo a identificação e eliminação do fecaloma quando presente (desimpactação); a promoção de uma a duas evacuações diárias com fezes pastosas, não calibrosas e sem esforço; o condicionamento esfinteriano e o acompanhamento clínico para prevenção de recorrência.<sup>1, 2,14</sup>

A abordagem da CI baseia-se na instituição de medidas gerais, dietéticas, atividade física, apoio e medicamentos.<sup>1,15</sup> Orientações devem ser dadas sobre vários aspectos, incluindo escape, retenção fecal, problemas de relacionamento e escolares.<sup>1</sup>

As medidas dietéticas são fundamentais e devem incluir uma alimentação balanceada que inclua grãos integrais, frutas, vegetais e água. O farelo de trigo pode ser usado em crianças maiores quando o aumento da ingestão de fontes naturais não está sendo alcançado ou trazendo benefícios.<sup>2,3</sup>

A terapêutica medicamentosa baseia-se no uso de laxativos. A escolha depende da idade e da gravidade da constipação.

O óleo mineral (1-3 ml/kg/dia) é um laxativo lubrificante utilizado no amolecimento das fezes e diminuição da absorção de água. É contraindicado em menores de dois anos, portadores de refluxo gastroesofágico, déficit neurológico ou outro distúrbio de deglutição pelo risco de pneumonia lipóidica por aspiração.<sup>2, 3,14</sup>

O hidróxido de magnésio (1-3 ml/kg/dia) é um laxante osmótico indicado em crianças que não toleram ou têm contraindicação ao óleo mineral. Deve ser usado com cautela em pacientes com insuficiência renal.<sup>2, 3, 14</sup>

A lactulose (1-3 ml/kg/dia) é também um laxativo osmótico que pode ser usado isolado ou associado, mas tem como desvantagem o alto custo, cólicas abdominais e flatulência.<sup>2, 3, 14</sup>

Recentemente, o polietilenoglicol sem adição de eletrólitos (0.5-1 g/kg/dia) tem apresentado bons resultados na abordagem da CI.<sup>2, 3, 14, 15</sup> Este polímero não é degradado pelas bactérias e age por efeito osmótico.<sup>16</sup> Apresenta boa adesão devido ao sabor.<sup>2, 14</sup>

Os laxativos devem ser mantidos até que os objetivos terapêuticos sejam alcançados, variando de seis a vinte e quatro meses de tratamento. A retirada deve ser gradual (3 a 6 meses) e o acompanhamento mantido para evitar recorrência.<sup>1, 2, 3</sup>

O treinamento esfinteriano deve ser estimulado apenas quando houver melhora do quadro com perda do medo para evacuar. A criança deve ser estimulada a sentar-se no vaso após as refeições (após reflexo gastro cólico) por 5 a 10 minutos. Os pés devem estar devidamente apoiados em um suporte adequado.<sup>2, 3</sup>

O sucesso terapêutico alcançado na abordagem da CI situa-se em torno de 60%.<sup>5, 6, 17</sup> Portanto, a busca de novas opções de tratamento se mostra necessária.

### **1.5 Microbiota intestinal e constipação intestinal**

O homem e a sua microbiota digestiva representam um ecossistema complexo que influencia várias funções intestinais. Têm papel importante na nutrição, na manutenção da integridade da barreira gastrointestinal e no desenvolvimento da imunidade da mucosa.<sup>18, 19</sup> O desequilíbrio dessa microbiota tem sido sugerido como parte importante no desenvolvimento das doenças gastrointestinais, incluindo a CICF.<sup>6, 18</sup>

A composição da microbiota e suas funções podem ser influenciadas por diversos fatores como idade, condições sócio econômicas, ingestão de drogas antimicrobianas, estresse e tipo ou mudança de alimentação.<sup>18, 19</sup> Ela também varia quantitativa, qualitativa e metabolicamente em função das localizações

longitudinais ao longo do trato gastrointestinal (TGI).<sup>18</sup> O estômago e o intestino delgado apresentam baixo número de bactérias em indivíduos saudáveis. O íleo representa uma zona de transição entre o predomínio de anaeróbios facultativos do jejuno e a densa população de anaeróbios encontrados no cólon. A baixa concentração de oxigênio desta região justifica essa colonização. No cólon, concentrações acima de  $10^{12}$  unidade formadora de colônia (UFC)/ml podem ser encontradas principalmente de anaeróbios como: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium*.<sup>18,19</sup>

A influência da alimentação na microbiota intestinal ocorre principalmente na infância. Ao nascimento, o TGI é estéril e rapidamente colonizado pelas bactérias maternas e do meio.<sup>20</sup> O alimento é a fonte principal dessa colonização e determinante da composição da microbiota. A maior susceptibilidade à interferência alimentar nessa fase pode ser explicada pelo fato de ser um ecossistema em via de instalação, conseqüentemente instável.<sup>18,19</sup> Após a infância, a composição da microbiota se mantém relativamente constante.<sup>19</sup>

O LM tem papel fundamental e determina diferenças importantes na microbiota intestinal quando comparado à alimentação artificial. As bifidobactérias são as espécies predominantes nas crianças alimentadas com LM. Enquanto crianças que usam fórmulas não suplementadas, a microbiota é composta por enterobactérias, lactobacilos, bacterioides, clostrídios, bífidos e estreptococos.<sup>21,22</sup>

Desequilíbrios da microbiota intestinal parecem estar envolvidos na CICF.<sup>6,18</sup> Pacientes com CICF podem apresentar diminuição da microbiota habitual e aumentos de microrganismos potencialmente patogênicos.<sup>23</sup> Essa disbiose intestinal (alteração do ecossistema) é demonstrada em crianças constipadas pela alteração da composição da microbiota. Ocorre uma contagem alta de clostrídios quando comparados a outros gêneros (*bacterioides* e *E. coli*) assim como uma substancial frequência das espécies de clostrídios e enterobacteriaceas. Estas últimas raramente isoladas em crianças saudáveis.<sup>11,24</sup> No entanto, não é claro se a disbiose é um fenômeno secundário ou se é realmente um fator contribuinte para a patogênese da CICF.<sup>11,12</sup>

## 1.6 Probióticos

Os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidade apropriada, conferem efeito benéfico na saúde do hospedeiro. Consistem em bactérias (especialmente lactobacilos e bífidobactérias) e leveduras (especialmente *Saccharomyces*). Podem estar presentes em alimentos (especialmente leites fermentados), suplementos e drogas. Seus benefícios dependem da capacidade em preservar sua função através da acidez estomacal até a chegada em seu sítio alvo.<sup>7, 9,10</sup>

Existem critérios estabelecidos para a definição de um microrganismo como probiótico. Estes são citados no quadro abaixo.<sup>7, 9,25</sup>

QUADRO 3

| <i>Critérios para definição de um microrganismo probiótico</i> |                                                    |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| -total segurança para o hospedeiro                             | -inibição a adesão de bactérias patogênicas        |
| -origem humana                                                 | -resistência a antimicrobianos                     |
| -resistência à acidez gástrica e secreções pancreáticas        | -tolerância a aditivos alimentares                 |
| -capacidade de adesão a células epiteliais                     | -estabilidade na matriz dos alimentos              |
| -habilidade em persistir no TGI                                | -capacidade de modular sistema imune               |
| -atividade antimicrobiana                                      | -capacidade de influenciar atividades metabólicas. |

Os probióticos usados nem sempre preenchem os critérios previamente citados. Os mais comuns são cadeias de bactérias como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*. Outros gêneros de microrganismos não patogênicos usados são *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bacillus* e as leveduras da espécie *Saccharomyces boulardii*. Existe ainda discussão sobre a inclusão de outras bactérias como *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* usadas em leite fermentado para iogurtes. Questiona-se a capacidade em atingir o TGI em altos números. Por outro lado, elas parecem melhorar a digestão da lactose e possuem efeitos imunológicos. Por esses motivos podem ser considerados probióticos.<sup>7,25</sup>

### 1.6.1 Mecanismos de ação

Os probióticos diferem entre si. As condições clínicas na qual sua eficácia tem sido relatada são várias, sugerindo que um simples mecanismo de ação para todos os tipos de probióticos e seus efeitos parece improvável. O efeito final na saúde e fisiologia pode ser direta ou indiretamente através da modificação da microbiota ou imunomodulação.<sup>10</sup> Eles atuam reforçando a barreira gastrointestinal e também melhorando a digestão de alimentos, especialmente a lactose. Diminuem algumas enzimas fecais relacionadas ao metabolismo de ativação de genes mutantes e carcinogênicos.<sup>9,26</sup>

O mecanismo de ação do probióticos na CI é baseado no reconhecimento da lentificação do trânsito gastrointestinal em meio livre de microrganismos. Estudos indicam que cadeias de probióticos como *B. animalis* podem modificá-lo.<sup>9, 27,28</sup> A disbiose da microbiota intestinal é observada em pacientes constipados e a administração de probióticos parece contribuir para normalização das funções intestinais.<sup>6</sup> A diminuição do pH colônico pela produção de ácido láctico e acético por algumas cadeias de probióticos como bifidobactérias e lactobacilos parece melhorar o peristaltismo no cólon levando a aceleração do trânsito colônico.<sup>6, 11,12</sup> Os probióticos também têm sido associados ao amolecimento das fezes pelo estímulo à secreção de água e eletrólitos.<sup>6</sup> Os mecanismos de ação envolvidos na CI ainda não são completamente esclarecidos.

### 1.6.2 Usos

Um grande número de benefícios à saúde tem sido atribuído aos probióticos. No entanto apenas alguns desses foram confirmados em estudos randomizados, controlados, principalmente em crianças.<sup>7</sup> São citados o uso na diarreia aguda, diarreia relacionada ao uso de antibióticos, enterocolite necrosante, síndrome do cólon irritável, doença inflamatória intestinal, infecção por *Helicobacter pylori*, alergia alimentar e CICF. Apenas os benefícios na diarreia foram comprovados na faixa etária pediátrica.<sup>7, 8, 12, 21,29</sup>

### 1.6.3 Doses

A concentração dos probióticos necessária para obtenção de efeito clínico é citada como superior a  $10^6$  UFC no delgado e superior a  $10^8$  UFC no cólon. A concentração no delgado foi proposta devido à relação com efeitos clínicos na diarreia em indivíduos com essa colonização bacteriana. No cólon, essa concentração representa o limite inferior da microbiota dominante.<sup>10</sup>

Uma preparação com probióticos deve conter uma quantidade mínima de UFC. As doses usadas em estudos terapêuticos e preventivos variam. Uma ingestão diária de  $10^6$  a  $10^9$  UFC tem sido reportada como a dose necessária para proposta terapêutica.<sup>7</sup> No tratamento da CI são citadas doses que variam de  $8 \times 10^8$  UFC a  $25 \times 10^9$  UFC ao dia.<sup>12</sup> São necessários estudos sobre a farmacocinética dos probióticos.<sup>7</sup>

### 1.6.4. Riscos e contraindicações

Como se tratam de organismos vivos, teoricamente os probióticos podem ser responsáveis por infecções, atividades metabólicas deletérias, estimulação imune excessiva e transferência de genes.

Os probióticos são selecionados através de critérios previamente estabelecidos (quadro 3). Logo, o risco teórico de infecção é baixo. Não há evidências que a ingestão de lactobacilos e bifidobactérias possam apresentar risco de infecção superior a cadeias comensais. Mas há insuficiente conhecimento dos riscos e benefícios na imunodeficiência. Os efeitos adversos imunológicos não foram relacionados a humanos.<sup>7,10</sup> Nos estudos sobre CI, os probióticos foram considerados seguros.<sup>7,12</sup>

O uso de probióticos é contraindicado à pacientes com imunossupressão, hospitalização prolongada e intervenções cirúrgicas.<sup>10,21</sup>

## 1.7 Probióticos e a constipação intestinal

O uso dos probióticos tem sido incluído na abordagem da CICF.<sup>7,8</sup> Apesar do tratamento convencional da CI ser bem estabelecido e seguro, para muitos pacientes ele não oferece melhora satisfatória, levando a busca de outras estratégias terapêuticas.<sup>5, 6, 12,30</sup>



Há várias razões para o uso dos probióticos como potencial terapia no tratamento da CI. Primeiramente, há evidências de diferenças entre a microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e constipados. Porém, ainda não é estabelecida se essa disbiose intestinal é um fator secundário à doença ou fator contribuinte dessa.<sup>6,11,12</sup> A administração de probióticos parece restaurar o equilíbrio da microbiota e secundariamente o peristaltismo intestinal. A produção de ácidos (ácido butírico, propiônico e láctico) por esses microrganismos pode alterar o pH colônico e afetar também a reabsorção de água e eletrólitos contribuindo para a hidratação do bolo fecal.<sup>27, 28, 31,32</sup>

## **1.8 Estudos sobre o uso de probióticos no tratamento da CI**

Estudos têm sido realizados para avaliar a eficácia do uso dos probióticos no tratamento da CICF em crianças. Porém, apenas alguns possuem desenho clínico randomizado controlado dificultando conclusões até o momento.<sup>6,7,8,11,12,33</sup> Estes estudos serão descritos a seguir. Alguns trabalhos relevantes em adultos serão citados devido à escassez de publicações na faixa etária pediátrica.

### **1.8.1 Uso de probióticos no tratamento da CI em adultos**

Em adultos, alguns estudos merecem ser citados sobre uso de probióticos na CI. Estes estão resumidos no quadro 4.

Em 1994, Mollenbrink et al, em um estudo randomizado, duplo mascarado, crossover, obtiveram sucesso no tratamento de 70 pacientes com CIC usando uma preparação de *E. coli*. Nissle 1917. Não foi definido o método de randomização utilizado.<sup>12,34</sup>

Em 2002, Ouwehand et al demonstraram que a administração não randomizada de um suco suplementado com *L. rhamnosus* e *Propionibacterium freudenreichii* resultou em um pequeno, mas significativo, aumento na frequência evacuatória dos pacientes. A melhora foi obtida com a associação de ambos os microrganismos. Não foi observada diminuição no uso de laxativos pelos pacientes.<sup>12,35</sup>

O estudo de Koebnick et al (2003) foi outro ensaio clínico randomizado duplo mascarado, envolvendo 70 pacientes com CIC. Foi utilizado o probiótico

*L. casei* Shirota por 4 semanas. Houve uma redução significativa na gravidade de CIC e aumento da frequência evacuatória. Não foram definidos os critérios para CIC e o método de randomização.<sup>12,32</sup>

No estudo de Yang et al (2008), a administração de um produto de leite fermentado contendo  $1.25 \times 10^{10}$ UFC de *B. lactis* DN-173010 e algumas cadeias de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgarius*,  $1.2 \times 10^9$ UFC) foi utilizada em mulheres com CIC em um ensaio clínico randomizado. O placebo utilizado foi um leite acidificado contendo bactérias não viáveis. Não foram utilizadas cadeias de *B. lactis* DN-173010 ou cadeias de iogurte para o controle. Foi sugerido um efeito benéfico do probiótico na frequência evacuatória e na consistência das fezes. O método de randomização também não foi bem definido na publicação.<sup>12,36</sup>

Quadro 4

| <i>Estudos dos probióticos na CI em adultos</i> |                                                               |     |                    |                  |         |           |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----|--------------------|------------------|---------|-----------|
| Estudo                                          | Probiótico<br>Dose                                            | N   | Desenho            | Duração          | Placebo | Resultado |
| Mollenbrink et al <sup>34</sup> (1994)          | <i>E.coli</i><br>Nissle1917<br>$25 \times 10^9$ UFC           | 70  | ECR*<br>Cruzado    | 4+4semanas       | Sim     | Eficaz    |
| Ouwehand et al <sup>35</sup> (2002)             | <i>L.rhamnosus</i><br><i>P.freudenreichii</i><br>Não definida | 28  | Não<br>Randomizado | 3+4+3<br>Semanas | Sim     | Eficaz    |
| Koebnick et al <sup>32</sup> (2003)             | <i>L.casei</i><br>Shirota<br>$6,5 \times 10^9$ UFC            | 70  | ECR*               | 4 semanas        | Sim     | Eficaz    |
| Yang et al <sup>36</sup> (2008)                 | <i>B. lactis</i><br>DN-173010<br>$1,25 \times 10^{10}$ UFC    | 126 | ECR*               | 2 semanas        | Sim     | Eficaz    |

\* ECR: Ensaio clínico randomizado

### 1.8.2 Uso de probióticos no tratamento da CI em crianças

Em crianças, existem poucas publicações sobre o uso de probióticos na CICF. O quadro 5 resume as características desses estudos.

**Banaszkiewicz et al (2005) / *Lactobacillus GG***

Em 2005, Banaszkiwicz et al publicaram um estudo randomizado, duplo mascarado para avaliar a eficácia do *Lactobacillus GG* em associação com lactulose para tratamento da CI em crianças.

Oitenta e quatro crianças (2-16 anos) com CICF (menos de três evacuações por semana nas últimas doze semanas) foram separadas aleatoriamente para receber tratamento com 1 ml/kg de lactulose e 10<sup>9</sup>UFC de *Lactobacillus GG* ou lactulose e placebo de 12/12 horas por 12 semanas. A randomização foi realizada através de uma lista gerada por computador.

O sucesso do tratamento foi similar em ambos os grupos. O *Lactobacillus GG* na dose do estudo não foi eficaz como terapia adjunta à lactulose no tratamento da CI em crianças. Entretanto o desenho do estudo não permite determinar se o *Lactobacillus GG* isoladamente poderia ter obtido resultado diferente.<sup>11,12</sup>

**Bekkali et al (2005) / Mistura de *Bifidobacterium sp.* e *Lactobacillus sp.***

Em 2007 foi publicado por Bekkali et al um estudo piloto para determinar o efeito de uma mistura de probióticos para tratamento da CI na infância.

Crianças (4-16 anos) com CICF (critérios de Roma III) foram eleitas para o estudo. Antes do início do tratamento, todas as crianças receberam uma vez ao dia, por 3 dias, um enema retal para desimpactação. Durante 4 semanas, as crianças receberam uma mistura com 4 x 10<sup>9</sup> UFC no total de probióticos (Ecologic<sup>®</sup> Relief) contendo bifidobactérias (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*) e lactobacilos (*L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus*). Durante o tratamento, as crianças foram instruídas a iniciar o treinamento esfinteriano (3 vezes ao dia por cinco minutos após alimentação). O uso de laxativos não foi permitido durante a intervenção.

Esse estudo demonstrou que a mistura de probióticos, contendo diferentes cadeias de bifidobactérias e lactobacilos, aumentou a frequência evacuatória nas crianças constipadas. Alterações da consistência das fezes não foram observadas. Ocorreu também diminuição do número de episódios de incontinência fecal e dor abdominal. A diminuição da dor parece estar ligada à diminuição da hipersensibilidade visceral por efeitos anti-inflamatórios na mucosa entérica pelos probióticos descrita em experimentos com ratos.<sup>6,12,37</sup>

Mais estudos randomizados placebo controlado são necessários para confirmar esses achados. Outra limitação na interpretação é a utilização de uma mistura de probióticos. A determinação da cadeia específica com função na CIC torna-se difícil.<sup>6,12</sup>

### **Ling et al (2007) / *Lactobacillus casei rhamnosus***

Em 2007 foi publicado por Ling et al um estudo duplo mascarado com o propósito de avaliar a eficácia do *Lactobacillus casei* (Lcr 35) no tratamento das crianças com CI e comparar esses efeitos com o óxido de magnésio e placebo.

O estudo foi desenvolvido com quarenta e cinco crianças (menores de 10 anos) com CICF. Elas foram randomizadas para receber Lcr 35,  $8 \times 10^8$  UFC, (grupo A), óxido de magnésio 50mg/kg/dia (grupo B) ou placebo (grupo C) por 2 vezes ao dia por 4 semanas. O uso da lactulose foi permitido quando não houve evacuação por 3 dias. Clister glicerinado foi usado apenas quando a evacuação não ocorresse por período superior a 5 dias ou houvesse dor abdominal relacionada à impactação fecal. Os pacientes foram orientados a evitar alimentos com probióticos por pelo menos 2 semanas antes e durante a terapia. Cultura das fezes foi realizada antes e após o tratamento para avaliar a mudança na microbiota. Os percentuais de *E. coli* e *Lactobacillus* foram analisados nessas amostras.

Os pacientes recebendo óxido de magnésio ou probióticos tiveram maior frequência evacuatória e percentagem de sucesso terapêutico, menor uso de clister glicerinado e fezes endurecidas em relação ao grupo placebo. Não houve diferença significativa entre o óxido de magnésio e probióticos nesses parâmetros. Os primeiros efeitos foram observados com óxido de magnésio (segunda semana) em relação aos probióticos (terceira semana). Dor abdominal ocorreu com frequência inferior no grupo com probiótico em relação aos outros dois grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os três grupos em relação ao escape fecal e mudanças no apetite.

Em relação à microbiota intestinal, quando comparados os três grupos, não houve diferença nas amostras das fezes antes do tratamento. O percentual de *Lactobacillus* entre o total de anaeróbios no pós-tratamento foi maior no grupo com probióticos em relação aos outros dois. O percentual de *E. coli* não alterou após a intervenção em todos os grupos. O transporte inadequado das fezes pode

justificar esse achado. Não houve correlação entre o percentual de *Lactobacillus* após o tratamento e a frequência evacuatória nos grupos.

Baseado nesse estudo, o uso de óxido de magnésio e probióticos parecem melhorar sintomas da CI leve ou moderada sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Efeitos adversos mínimos foram observados entre os grupos. Porém os autores ressaltaram a importância de outros estudos com maior número de casos e maior período de observação.<sup>12,38</sup>

Existe uma proposta de estudo randomizado duplo mascarado em duas nações (Holanda e Polônia) publicada por Tabbers et al com crianças com CICF segundo os critérios de Roma III. Elas serão alocadas para receber um produto fermentado contendo *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 ( $6 \times 10^9$  UFC) e algumas cepas do próprio iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgarius*,  $1,2 \times 10^9$  UFC) ou placebo. Esse último será constituído de leite não fermentado com baixo teor de lactose. Os autores referem que ambos apresentam as mesmas características de cor, sabor e cheiro.<sup>39</sup> Esse estudo será o primeiro estudo multicêntrico randomizado, placebo controlado para avaliar a *B. Lactis* na abordagem da CICF infantil. Os resultados serão divulgados e interpretados com a ressalva de ser um experimento patrocinado pelo fabricante do produto.

Quadro 5

| <i>Estudos dos probióticos na CI em crianças</i> |                                                             |    |                            |            |                       |           |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----|----------------------------|------------|-----------------------|-----------|
| Estudo                                           | Probiótico<br>Dose                                          | N  | Desenho                    | Duração    | Placebo               | Resultado |
| Banaszkiewicz et al <sup>11</sup> (2005)         | <i>Lactobacillus</i> GG<br>$2 \times 10^9$ UFC<br>Lactulose | 84 | ECR*                       | 12 semanas | Placebo+<br>Lactulose | Ineficaz  |
| Bekkali et al <sup>6</sup> (2005)                | Mistura Bífido e Lactobacilos<br>$4 \times 10^9$ UFC        | 20 | Estudo Piloto Sem controle | 4 semanas  | Não                   | Eficaz    |
| Ling et al <sup>38</sup> (2007)                  | <i>L. casei</i> Shirota<br>$8 \times 10^9$ UFC              | 45 | ECR*                       | 4 semanas  | Placebo               | Eficaz    |

\* ECR: Ensaio clínico randomizado

## 1.9 Limitações dos estudos sobre probióticos e CIC

De acordo com as revisões realizadas, não há evidências da eficácia do uso dos probióticos no tratamento da CIC da criança nos estudos realizados até o momento.<sup>7,8,12</sup> Essas revisões incluíram os ensaios clínicos randomizados placebo controlados citados anteriormente em crianças<sup>11,38</sup> e alguns em adultos.<sup>32,34,35,36</sup>

Existem poucos estudos avaliando probiótico e CIC principalmente na faixa etária pediátrica. O número de participantes envolvidos ainda é pequeno e há limitações metodológicas em vários destes. Alguns estudos demonstraram diferença significativa entre probiótico e placebo, porém, não estabelecem bem a relevância clínica do achado (por exemplo, o aumento em apenas um número por semana na frequência evacuatória proporcionado pela *B. lactis* DN173010).<sup>12,36</sup>

Há outras limitações na interpretação dos achados dos estudos até o momento. Primeiramente, a diversidade de cadeias de probióticos testadas é um fator limitante. Um achado de uma espécie específica não pode ser referido à outra. Segundo, existe um viés da não publicação de estudos com efeitos negativos mesmo com metodologia adequada. A terceira questão refere-se ao suporte por indústrias produtoras de alimentos probióticos nesses estudos. Há interesse que resultados negativos não sejam publicados. A quarta limitação é a exclusão de publicação de artigos em outras línguas como a japonesa. Outro ponto de destaque é que mesmo ensaios clínicos randomizado duplo mascarado podem conter limitações metodológicas importantes principalmente em relação ao método de randomização e ao mascaramento entre os grupos.<sup>12</sup> Além disso, uma investigação detalhada das diversas cadeias de probióticos e os mecanismos de ação ainda se faz necessária.<sup>7</sup>

Em relação aos produtos comerciais contendo probióticos, uma consideração merece destaque: controle de qualidade. Vários pesquisadores quando analisaram esses acharam microrganismos probióticos não viáveis e alguns patógenos que não deveriam fazer parte do produto.<sup>8,19</sup>

### **1.10 Conclusão**

O uso dos probióticos na abordagem das doenças gastrointestinais tem crescido recentemente. Popularmente, pacientes têm creditado a melhora da CI ao uso de alimentos industrializados que contém probióticos.

Até o momento, não há evidências suficientes comprovando a eficácia dos probióticos na CICF principalmente na faixa etária pediátrica.<sup>7,8,12</sup> Porém, os resultados encorajam a realização de novos ensaios clínicos randomizados placebo controlado.

## Referências

1. Morais MB, Maffei HVL. Constipação intestinal. J Pediatr. 2000; 76 Suppl 2: 147-56.
2. Melo MCB, Torres MRF, Guimarães EV, Figueiredo RCP, Penna JF. Constipação intestinal. Revista Médica de Minas Gerais. 2003; 13 (4 Suppl 2): 35-43.
3. Torres MF, Figueiredo RCP, Penna FJ. Constipação intestinal. In: Leão E, Corrêa EJ, Mota JAM, Viana MB. Pediatria Ambulatorial. 4ª edição. Belo Horizonte: COOPMED Editora Médica; 2005. p. 366-78.
4. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes C, Hyams JS, Staiano A, et al. Childhood Functional Gastroenterology Disorders Children / Adolescents. Gastroenterology. 2006; 130 (5):1527-37.
5. Voskuijl W, Lorig F, Verwijs W, Hogeman P, Heijmans J, Mäkel W, Taminiou J, Benninga M. PEG 3350 (Transipeg) versus lactulose in the treatment of childhood function constipation: a double blind, randomised, controlled, multicentre trial. Gut. 2004 Nov; 53(11):1590-4.
6. Bekkali N, Bongers MEJ, Berg MMVB, Liem O, Benninga MA. The role of probiotics mixture in the treatment of childhood constipation: a pilot study. Nutr J. 2007 Aug; 6:17.
7. Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S. Probiotic in Gastrointestinal Diseases in Children: Hard and Not-So-Hard Evidence of Efficacy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2006; 42 (5): 454-75.
8. Vanderplas Y, Benninga M. Probiotics and Functional Gastrointestinal Disorders in Children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; 48 Suppl 2: 107-9.
9. Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2003 Oct; 17(5):711-24.
10. Marteau P, Shanahan F. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. Best Pract Res Clin Gastroenterol; 2003; 17 (Pt 5): 725-40.
11. Banaszkiwicz A, Szajewska H. Ineffectiveness of *Lactobacillus* GG as an adjunct to lactulose for treatment of constipation in children: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. J Pediatr. 2005 Mar; 146 (3): 364-9.
12. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: Probiotics for functional constipation. World J Gastroenterol. 2010 Jan 7; 16(1): 69-75.



13. Soares ACFS, Tahan S, Morais MB. Efeito do tratamento convencional da constipação funcional no tempo de trânsito orocecal e colônico total e segmentar. *J Pediatr*. 2009; 85 (4): 322-28.
14. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Evaluation and Treatment of Constipation in Infants and Children: Recommendations of North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006; 43(3): e1-13.
15. Chatoor D, Emmnauel A. Constipation and evacuation disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*.2009 (23): 517-30.
16. Bharucha AE, Phillips SF. Slow transit constipation. *Gastroenterol Clin North Am*. 2001 mar; 30 (1): 77-95.
17. Di Lorenzo C. Childhood constipation: finally some hard data about hard stools! *J Pediatr*. 2000 Jan; 136(1): 4-7.
18. Leite JA, Nicoli JR. Nutrição e Microbiota Intestinal Normal. In: Péret Filho LA. *Terapia Nutricional nas doenças do aparelho digestivo na infância*. 2ªEdição. Belo Horizonte: Editora Médica e Científica Ltda Medsi; 2003: p15-30.
19. Quigley EMM. Prebiotics and probiotics modifying and mining the microbiota. *Pharmacol Res*. 2010 Jan; 18:1-6.
20. Penna FJ, Péret LA, Vieira LQ, Nicoli JR. Probiotics and mucosal barrier in children. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008 Sep; 11(5):640-4.
21. Rautava S .Potencial uses of probiotics in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2007 Feb; 12 (1):45-53.
22. Puccio G, Cajozzo C, Meli F, Rochat F, Grathwohl D, Steenhout P. Clinical evaluation of a new starter formula for infants containing live *Bifidobacterium longum* BL999 and prebiotics. *Nutrition*. 2007 Jan; 23(1):1-8.
23. Khalif IL, Quigley EMM, Konovitch EA, Maximova ID. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation. *Dig Liver Dis*. 2005 Nov; 37(11): 838-49.
24. Zoppi G, Cinquetti M, Luciano A, Benini A, Muner A, Bertazzoni Minelli. The intestinal ecosystem in chronic functional constipation. *Acta Paediatr*. 1998 Aug; 87(8):836-41.
25. Guarner F, Perdigon G, Corthier G, Salminen, S, Koletzko B, MorelliL. Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br J Nutr*. 2005; 93(6): 783-6.
26. Roberfroid M. Prebiotic and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr*. 2000; 71 Suppl 6: 1682-7.

27. Meance S, Cayuela C, Turchet P et al. A fermented milk with a *Bifidobacterium* probiotic strain DN-173010 shortened oro-fecal gut transit time in elderly. *Microb Ecolin Health Dis* 2001; 13: 217–22.
28. Bouvier M, Meance S, Bouley C et al. Effects of consumption of milk fermented by the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* DN-173010 on colonic transit times in healthy humans. *Biosci Microflora* 2001; 20: 43–48.
29. Corrêa NB, Péret Filho LA, Penna FJ, Lima FM, Nicoli JR. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol*. 2005 May-Jun; 39(5):385-9.
30. Bongers ME, Benninga MA, Maurice-Stam H, Grootenhuis MA. Health-related quality of life in young adults with symptoms of constipation continuing from childhood into adulthood. *Health Qual Life Outcomes*. 2009 Mar 2; 7:20.
31. Salminen S, Salminen E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scand J Gastroenterol Suppl*.1997; 222:458.
32. Koebnick C, Wagner I, Leitzmann P, Stern U, Zunft HJF. Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. *Can J Gastroenterol*.2003 Nov; 17(11):655-9.
33. Bennis MA, Candy DCA, Taminiou JA. New treatment options in childhood constipation? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Sep; 41 Suppl 1:56-7.
34. Möllenbrink M, Bruckschen E. Treatment of chronic constipation with physiologic *Escherichia coli* bacteria. Results of a clinical study of the effectiveness and tolerance of microbiological therapy with the *E. coli* Nissle 1917 strain (Mutaflor). *Med Klin*. 1994 Nov 15; 89(11):587-93.
35. Ouwehand AC, Lagström H, Suomalainen T, Salminen S. Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly. *Ann Nutr Metab*. 2002; 46(3-4):159-62.
36. Yang YX, He M, Hu G, Wei J, Pages P, Yang XH, Bourdu-Naturel S. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on Chinese constipated women. *World J Gastroenterol*. 2008 Oct 28; 14(40):6237-43.
37. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut*. 2003 Jul;52(7):975-80.
38. Bu LN, Chang MH, Ni Y, Chen LH, Cheng CC. *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr 35 in children with chronic constipation. *Pediatr Int*. 2007; 49:485-90.

39. Tabbers MM, Chmielewska A, Roseboom MG, Boudet C, Perrin C, Szajewska H, Benninga MA. Effect of the consumption of a fermented dairy product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on constipation in childhood: a multicentre randomised controlled trial (NTRTC: 1571). *BMC Pediatr.* 2009 Mar 18; 9:22.

## **2 ARTIGO ORIGINAL**

**AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO  
TRATAMENTO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
COM CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA  
FUNCIONAL NÃO COMPLICADA: UM ESTUDO  
RANDOMIZADO E DUPLO MASCARADO**

## AVALIAÇÃO DO USO DE PROBIÓTICO NO TRATAMENTO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM CONSTIPAÇÃO INTESTINAL CRÔNICA FUNCIONAL NÃO COMPLICADA: UM ESTUDO RANDOMIZADO E DUPLO MASCARADO

### Resumo

**Introdução:** Os probióticos têm sido citados na abordagem da constipação intestinal. Porém a evidência dessa eficácia é limitada. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia da *Bifidobacterium longum* na abordagem da constipação intestinal crônica não complicada de crianças e adolescentes. **População e métodos:** O ensaio clínico randomizado duplo mascarado crossover foi realizado com 59 crianças e adolescentes (5-15 anos) de uma escola pública de Belo Horizonte, MG, com constipação intestinal crônica segundo os critérios de Roma III. Estes foram randomizados em dois grupos para receber diariamente um iogurte acrescido com *Bifidobacterium longum* ( $10^9$  UFC/dia) ou somente iogurte por 5 semanas. Após esse período, o tratamento entre os grupos foi cruzado por mais 5 semanas. Foram analisadas: consistência das fezes, frequência evacuatória, dor abdominal e dor para evacuar. **Resultados:** Comparando as intervenções placebo e probiótico em relação a consistências das fezes, houve diferença significativa ( $p=0.03$ ) após 5 semanas apenas na primeira fase. Para frequência evacuatória, dor abdominal e dor para evacuar houve diferença significativa com a suplementação da *B. longum* ( $p<0.05$ ). **Conclusão:** Uma melhora para frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal com a suplementação da *B. longum* foi observada no presente estudo.

Palavras-chave: Probiótico, constipação intestinal, crianças e adolescentes.

**AVALIATION OF THE USE OF PROBIOTIC IN THE TREATMENT  
FOR CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH CHRONIC NOT  
COMPLICATED INTESTINAL FUNCTIONAL CONSTIPATION:  
A DOUBLE-BLIND RANDOMIZED STUDY**

**Abstract**

**Introduction:** The use of probiotics as treatment for functional chronic intestinal constipation (FCIC) in childhood is until now considered only as investigational. The aim of the present study was to evaluate effectiveness of *Bifidobacterium longum* for pediatric and adolescents FCIC. **Population and Methods:** The double-blind randomized trial was carried out on 59 students (age range: 5 to 15 years) of a public school at Belo Horizonte, MG, Brazil, presenting a FCIC diagnostic, according to Roma III criteria. The students were randomized in two groups to receive daily a yogurt supplemented with *Bifidobacterium longum* ( $10^9$  CFU) or only the yogurt for a period of 5 weeks. Afterwards, the groups were intercrossed for another 5 weeks. Defecation frequency, feces consistency and abdominal or defecation pain were assessed. **Results:** Comparing the two intervention for feces consistency between, a significant difference ( $p=0.03$ ) was observed only after 5 weeks of treatment in the first phase. A significant improvement was noted for defecation frequency, abdominal pain and defecation pain when *B. longum* was supplemented ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** An improvement in defecation frequency, defecation pain and abdominal pain with the *B. longum* supplementation was suggested in the present intercrossed study.

Key-words: probiotic, constipation, children, adolescents

## 2.1 Introdução

A constipação intestinal crônica (CIC) constitui condição frequente na população pediátrica. No Brasil, a prevalência varia entre 14.7% a 38.4%.<sup>1</sup> Na maioria dos casos, não há uma causa orgânica associada, sendo a CIC denominada funcional. O tratamento atual é baseado em orientações dietéticas, comportamentais e medicamentosas.<sup>2</sup> Entretanto, o sucesso terapêutico alcançado situa-se em torno de 60% justificando a busca de novas opções terapêuticas.<sup>3,4</sup> O uso de probióticos tem sido recentemente estudado. Porém, de acordo com várias revisões, a evidência da sua eficácia é limitada.<sup>5, 6,7</sup>

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidade apropriada, conferem efeito benéfico na saúde do hospedeiro.<sup>5,8,9</sup> São citados os usos no tratamento da diarreia aguda, enterocolite necrosante, doenças inflamatórias intestinais e CIC funcional (CICF).<sup>5,6</sup> Neste caso, o probiótico atuaria sobre uma possível disbiose da microbiota intestinal e alteraria a motilidade intestinal.<sup>7,10</sup>

Estudos têm sido realizados para avaliar o uso dos probióticos para tratamento da CICF em crianças. Efeitos positivos nos sintomas da CIC foram observados por Bekkali et al (2007)<sup>3</sup> e Ling-Nan Bu et al (2007).<sup>11</sup> Porém, não houve evidência de benefícios no ensaio clínico realizado por Banaszkievic et al (2005).<sup>10</sup>

O objetivo do presente ensaio clínico randomizado duplo mascarado foi avaliar a eficácia, tolerância e segurança do uso de um probiótico (*Bifidobacterium longum*) na abordagem de crianças e adolescentes (5-15 anos) com CICF em Belo Horizonte, Minas Gerais (MG).

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Desenho do estudo**

Um ensaio clínico randomizado duplo mascarado crossover foi realizado para avaliar a eficácia, segurança e tolerância do probiótico *Bifidobacterium longum* adicionado a um iogurte de leite de cabra no tratamento de crianças e adolescentes com CICF. O estudo foi conduzido de abril a julho de 2009 em uma escola pública estadual, localizada na região central de Belo Horizonte, MG.

### **2.2.2 Seleção e Randomização**

Pacientes foram recrutados em uma escola pública frequentada por crianças e adolescentes no turno da tarde. O número de alunos neste período é de aproximadamente 2000, distribuídos em 48 turmas. Cada uma destas turmas foi identificada com um número. A partir de uma seqüência de números aleatórios foram selecionadas 10 delas. Todos os alunos destas turmas foram convidados a participar do estudo. Em seguida foram submetidos a uma entrevista e exame físico, direcionados a identificar CICF e contraindicações ao uso do probiótico.

Após identificação de sessenta crianças com CICF, os pacientes receberam um número (de 1- 60) e duas listas aleatórias foram geradas, cada uma com 30 números. Formaram-se, então, dois grupos, aos quais foram administrados probiótico e placebo de forma alternada por igual período (crossover das fases de intervenção). Pacientes e pesquisadores desconheciam essa divisão. O uso do produto com características semelhantes (cor, aparência e sabor) garantiram o mascaramento do experimento.

A seqüência aleatória e a lista de randomização foram geradas por meio eletrônico (programa Epi Info).

### **2.2.3 Participantes**

Participaram do estudo 59 crianças e adolescentes (5-15 anos), de ambos os sexos, alunos de uma escola pública de Belo Horizonte, com diagnóstico de CICF segundo os critérios de Roma III.



Critérios de inclusão:

- diagnóstico de CICF, de acordo com Roma III, exceto escape fecal: duas ou menos evacuações por semana, história de retenção fecal excessiva, presença de movimentos intestinais dolorosos, presença de massa fecal no reto, história de fezes de grosso calibre que entopem o vaso sanitário. Dois destes deveriam estar presentes por pelo menos uma vez por semana nos últimos dois meses;<sup>12</sup>
- não estar sendo submetido a tratamento de CIC ou enemas de limpeza intestinal;
- aceitar não fazer uso durante o período de acompanhamento de nenhum alimento suplementado com probióticos em quantidade equivalente a 50% ou mais da dose terapêutica;
- apresentar telefone para contato com pais ou responsáveis.

Critérios de exclusão:

- portadores de qualquer doença possível de causar CIC;
- pacientes em uso de medicação constipante ou laxantes;
- pacientes com escape fecal nos últimos três meses;
- massa fecal volumosa ao exame físico;
- qualquer contraindicação ao uso de probiótico.

O tamanho da amostra (n) foi estabelecido através de um estudo piloto de quinze crianças com o objetivo de conhecer a média da diferença e a variância da diferença da frequência evacuatória dos grupos placebo e probiótico. Para garantir que o cálculo amostral levasse em consideração o desenho crossover utilizou-se a fórmula (mostrada abaixo) para a comparação das diferenças das médias, considerando nível de significância de 5% e poder detecção de diferença (melhora) de no mínimo 80%, média da diferença 0,75 e variância da diferença de 3,15.<sup>13</sup>

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma_m^2}{2\varepsilon^2}, Z_{\alpha/2} = 1,96 \text{ para } \alpha = 0,05, Z_{\beta} = 0,84 \text{ para poder } 0,80$$

$\varepsilon = \text{média da diferença} = 0,75 \text{ e } \sigma_m^2 = \text{variância da diferença} = 3,15$

$$n = \frac{(1,96 + 0,84)^2 \cdot 3,15}{2 \cdot 0,75^2} = 22 \text{ para cada grupo}$$

## 2.2.4 Protocolo

As crianças eleitas a participar do estudo foram divididas em 2 grupos e acompanhadas por 10 semanas. Na primeira fase da intervenção (5 semanas iniciais), um grupo recebeu probiótico e o outro placebo. Na segunda fase (5 semanas subsequentes, após intervalo de 2 dias), o grupo que recebeu probiótico recebeu placebo e vice-versa (crossover). Os pacientes e a pesquisadora não tiveram conhecimento sobre a formação dos grupos e sobre qual intervenção estava sendo realizada em nenhuma das fases.

Todos os pacientes registraram diariamente o hábito evacuatório e outros sintomas associados durante todo o período de intervenção em folha própria. Os pacientes e/ou pais que não entregaram a folha de registro foram submetidos à entrevista nas semanas 1, 3, 5, 6, 8 e 10 da intervenção. Essas semanas foram denominadas de momentos A1, A2, A3, B1, B2 e B3 respectivamente. A mudança nas letras (A para B) indica o momento do crossover do estudo.

Foi também utilizada a escala de Bristol<sup>14</sup> para melhor caracterização das fezes durante o seguimento. Foi enviada a representação ilustrada da mesma para todos os participantes (Apêndice 1). Esses registravam o número da escala compatível com a das próprias fezes. As do tipo 1, 2 e 3 referem-se a fezes compatíveis com o quadro de CI, tipo 4 fezes normais e tipo 5 fezes diarreicas.

Todas as crianças e adolescentes foram examinadas no início e fim de cada fase de intervenção. Não foi realizada orientação alimentar para nenhum paciente.

### Probiótico e placebo

O probiótico utilizado foi a *Bifidobacterium longum*, isolada de fezes de crianças saudáveis de Salvador (Bahia) e classificadas no Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A cepa foi identificada por testes morfotintórias, respiratórios e bioquímicos, seguido de PCR multiplex.<sup>15</sup>

A cepa de *B. longum* utilizada neste projeto apresentou propriedades para uso como probiótico. Dentre outras cepas de bifidobactérias, esta apresentou adequada velocidade de crescimento e tolerância ao oxigênio. Além disso,

apresentou melhor potencial de inibição contra cepas de referência de *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens Tipo A*, *Salmonella Typhi* e *Enterococcus faecalis*. Foi demonstrado também ser sensível a antimicrobianos como penicilina G, piperacilina, cloranfenicol, cefoxitina, metronidazol e tetraciclina.

Para elaboração da suspensão da bactéria probiótica, a cepa foi mantida a -86 °C em caldo De Man, Rogosa & Sharpe (MRS, Difco, Sparks, EUA), adicionado de 15% de glicerol esterilizado. A cultura foi ativada através da inoculação de 100 µL da amostra em 5 ml em caldo MRS regenerado e incubada a 37 °C durante 48 horas em câmara anaeróbica (Forma Scientific, Marietta, EUA) contendo uma atmosfera de 85% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> e 5% O<sub>2</sub>. Após ativação, a cultura foi cultivada em caldo MRS regenerado, a 37 °C durante 48 horas em condições anaeróbicas. O segundo repique foi obtido pela inoculação de 100µL da cultura em 70 ml de caldo MRS e incubação à 37° em anaerobiose por 48 horas. A contagem, após 48 horas, feita em triplicata foi equivalente a  $1,55 \times 10^9$  UFC/ml de *B. longum*.

Após este período, a cultura foi centrifugada por 10 minutos a 5.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o pellet suspenso em água peptonada regenerada. Procedeu-se nova centrifugação. Em seguida, o sobrenadante foi descartado. Acrescentou-se água peptonada regenerada às células obtendo-se uma concentração de aproximadamente  $2,3 \times 10^{10}$  UFC/ml.

Para o preparo do iogurte suplementado com probiótico, foi adicionada 1 ml da suspensão da bactéria em flaconete estéril contendo 9 ml de iogurte de leite de cabra (sabor coco, adquirido no laticínio Capril em Contagem, MG). Foi feita homogeneização e a concentração final de *B. longum* foi de  $10^9$  UFC/ml. Para o controle, foi adicionado 1 ml de água peptonada em 9 ml do mesmo iogurte. As semelhanças da consistência, sabor e cor garantiram o mascaramento do estudo.

Ambos os iogurtes eram armazenados em geladeira e usados em um intervalo de no máximo 8 dias da fabricação. Para a administração do iogurte, foi realizada homogeneização prévia de ambas as amostras. O fornecimento era realizado diariamente em seringas em um volume de 1 ml para todas as crianças pela pesquisadora. No fim de semana, o iogurte era administrado pelos pais e/ou responsáveis. As embalagens utilizadas eram devolvidas para certificação do uso.

Durante o transporte, os iogurtes eram conservados em isopor e gelo.

O controle da viabilidade da *B. longum* e pH demonstrou ser adequada a utilização do iogurte suplementado com probiótico após 7 dias.<sup>16</sup>

### **2.2.5 Análise estatística**

Utilizou-se o *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0* para as análises estatísticas dos dados.

As variáveis avaliadas foram: frequência evacuatória, dor para evacuar, dor abdominal (todas essas medidas em número de ocorrência por semana) e consistência das fezes. A análise estatística comparou-se as intervenções probiótico e placebo através do teste exato de Pearson para variáveis categóricas. Na comparação placebo vs probiótico, utilizou-se o teste Wilcoxon para distribuições. Este teste não paramétrico foi utilizado, pois as variáveis não tiveram distribuição normal. A normalidade foi avaliada pelo teste Shapiro Wilk.

### **2.2.6 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Geras (parecer no ETIC0506/08). O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido de todos os participantes.

## **2.3 Resultados**

Os resultados do estudo serão apresentados na seguinte ordem: casuística, comparação entre as intervenções placebo e probiótico para consistência das fezes, frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal.

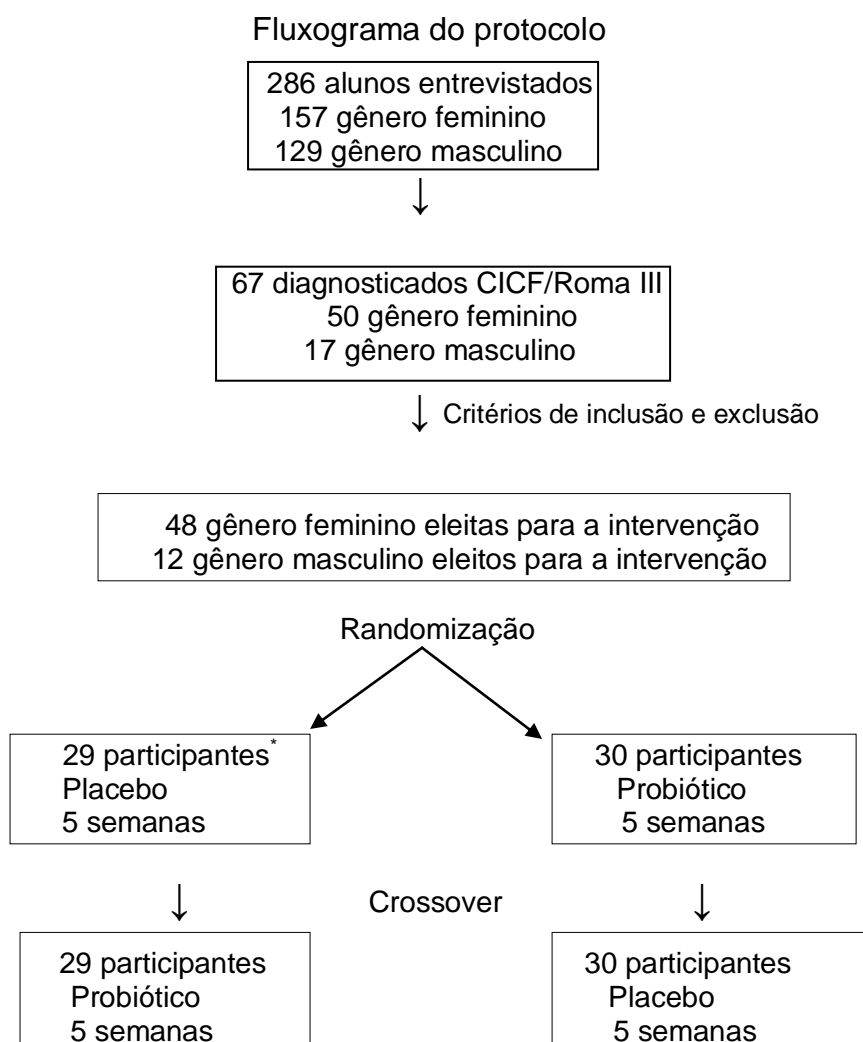
Todas as variáveis analisadas foram obtidas através do recordatório diário realizado pelos pacientes e/ou pais ou responsáveis. Os momentos A1, A2 e A3 correspondem, respectivamente, as semanas 1,3 e 5 de intervenção na primeira fase. Os momentos B1, B2 e B3 referem-se às semanas 6,8 e 10 da segunda fase da intervenção, após o crossover.

### 2.3.1 Casuística

Após a randomização inicial descrita anteriormente, foram avaliadas 286 crianças e adolescentes (Fluxograma do Protocolo). Dentre estas, 157 eram do gênero feminino (54,9%) e 129 do masculino (45,10%). O diagnóstico de CICF, segundo os critérios de Roma III, foi estabelecido em 67 deles (23,42%). Sete desse total foram excluídos segundo os critérios desse estudo:

- 03 meninos apresentaram escape fecal nos últimos 3 meses;
- 01 menino e 01 menina não possuíam telefone para contato;
- 01 menino e 01 menina se recusaram a participar do estudo.

Após a seleção dos 60 participantes, uma abandonou a intervenção após a primeira semana por discordância entre os pais sobre a sua participação. Não houve nenhum efeito colateral relatado por essa família.



### Caracterização da amostra

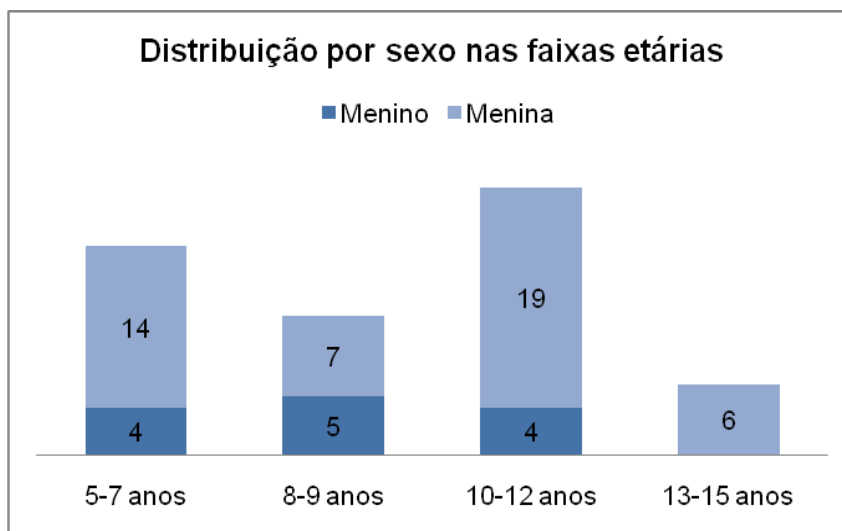
Cinquenta nove crianças e adolescentes seguiram todo o protocolo de intervenção. As características dessas se encontram na tabela abaixo (tabela 1).

Tabela 1 – Características da população estudada

| Variáveis                    | N (%)       |
|------------------------------|-------------|
| Sexo                         |             |
| Feminino                     | 47 (79.66%) |
| Masculino                    | 12 (20.33%) |
| Idade                        |             |
| 5 a 7 anos                   | 18 (30.5%)  |
| 8 a 9 anos                   | 12 (20.3%)  |
| 10 a 12 anos                 | 23 (39%)    |
| 13 a 15 anos                 | 6 (10.2%)   |
| Tratamento prévio para CI    |             |
| Sim                          | 8 (13.6%)   |
| Não                          | 51(86.4%)   |
| Frequência evacuatória       |             |
| ≤ 2 vezes/semana             | 36 (61%)    |
| 3-6 vezes/semana             | 20 (33.9%)  |
| 7 ou mais vezes/semana       | 3 (5.1%)    |
| Fezes escala de Bristol      |             |
| 1                            | 12 (20.3%)  |
| 2                            | 20 (33.9%)  |
| 3                            | 24 (40.7%)  |
| 4                            | 3 (5.1%)    |
| 5                            | 0 (0%)      |
| Dor para evacuar (≥1/semana) |             |
| Sim                          | 46 (78%)    |
| Não                          | 13 (22%)    |
| Dor abdominal (≥1/semana)    |             |
| Sim                          | 51 (86.4%)  |
| Não                          | 8 (13.6%)   |

Houve uma maior frequência do diagnóstico de CICF no sexo feminino (79.6%). A faixa etária foi de 5-15 anos com um predomínio de 10-12 anos (39%). A distribuição do sexo por faixa etária pode se vista no gráfico 1. Observa-se que a maioria das meninas encontra-se na faixa etária de 10-15 anos. A maioria dos pacientes nunca havia sido submetida a nenhum tratamento para CI. As características do hábito evacuatório foram compatíveis com o diagnóstico como descritas na tabela anterior.

Gráfico 1

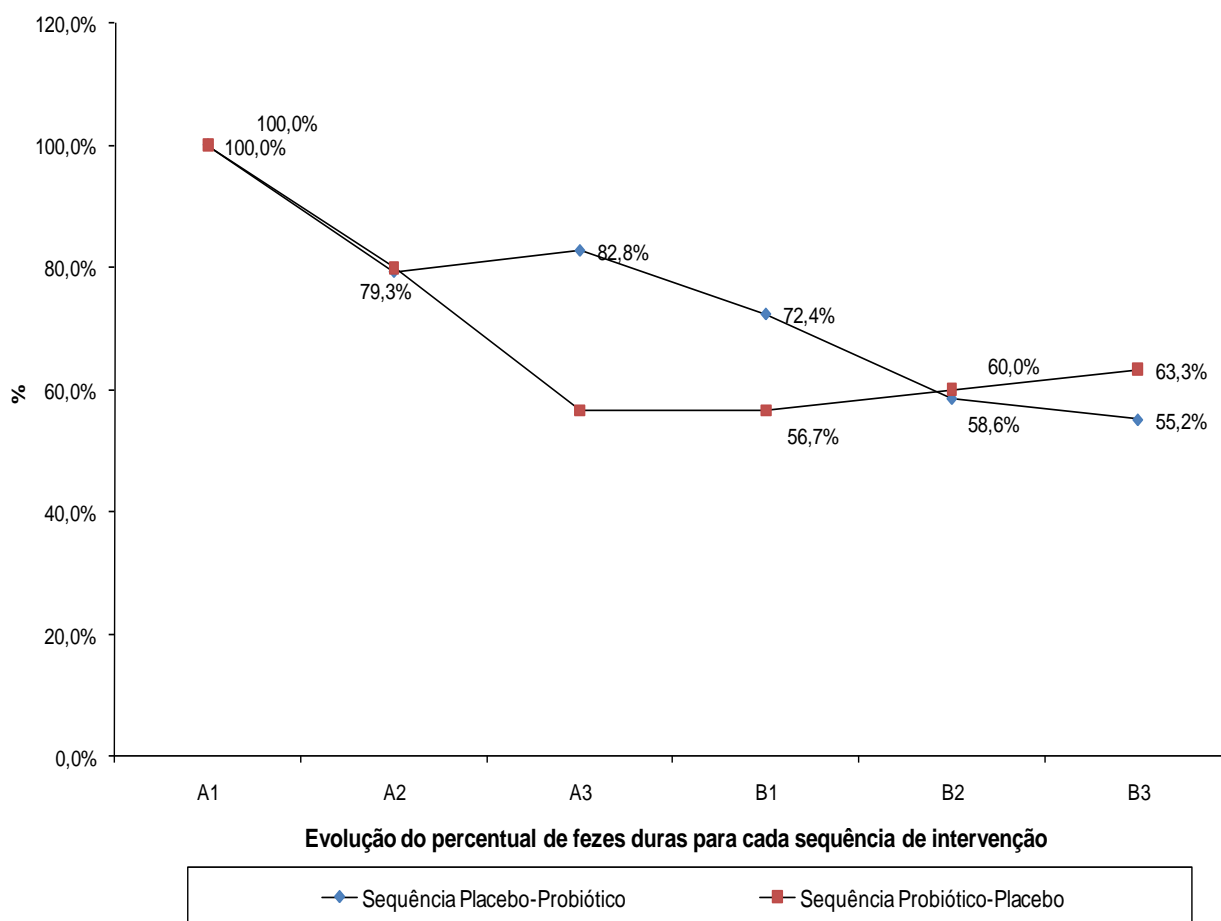


### 2.3.2 Consistência das fezes

A evolução das fezes com consistência duras para cada sequência de intervenção (probiótico-placebo, placebo-probiótico) pode ser vista no gráfico 2.

Observa-se que o grupo que iniciou a intervenção com probiótico apresenta uma queda no percentual das fezes duras e aumento desse quando a intervenção passa a ser placebo. No grupo que iniciou com placebo, há inicialmente uma queda no percentual das fezes duras com um aparente efeito adicional quando a intervenção passa a ser probiótico.

Gráfico 2 – Evolução da Distribuição das porcentagens das fezes duras para cada sequência de intervenção



### 2.3.3 Comparação da consistência das fezes

A comparação da consistência das fezes entre as intervenções probiótico e placebo foi avaliada para cada momento do experimento separadamente. Os resultados encontram-se na tabela 2.

Ao nível de significância de 5%, observa-se que somente no momento A3 ocorreu diferença entre placebo e probiótico em relação à consistência das fezes. Nesse momento, a frequência de fezes duras é menor para o probiótico. Enquanto que a frequência das fezes pastosas é maior para essa intervenção. Nos demais momentos não há diferença significativa.



Tabela 2 – Comparações da consistência das fezes entre as intervenções placebo e probiótico para cada momento

| Momentos | Consistência |           |            |       | p*    |
|----------|--------------|-----------|------------|-------|-------|
|          | Fezes        | Placebo   | Probiótico | Total |       |
| A1       | Duras        | 29 (100)  | 30 (100)   | 59    | ND    |
|          | Pastosas     | 0 (0,0)   | 0 (0,0)    | 0     |       |
|          | Líquidas     | 0 (0,0)   | 0 (0,0)    | 0     |       |
| A2       | Duras        | 23(79.3)  | 24 (80.0)  | 47    | 0,948 |
|          | Pastosas     | 6 (20.7)  | 6 (20.0)   | 12    |       |
|          | Líquidas     | 0 (0)     | 0 (0)      | 0     |       |
| A3       | Duras        | 24(82.8)  | 17(56.7)   | 41    | 0.030 |
|          | Pastosas     | 5 (17.2)  | 13(43.3)   | 18    |       |
|          | Líquidas     | 0 (0)     | 0 (0)      | 0     |       |
| B1       | Duras        | 17 (56.7) | 21(72.4)   | 38    | 0.207 |
|          | Pastosas     | 13(43.3)  | 8 (27.6)   | 21    |       |
|          | Líquidas     | 0 (0)     | 0 (0)      | 0     |       |
| B2       | Duras        | 18 (60.0) | 17 (58.6)  | 35    | 0.590 |
|          | Pastosas     | 11 (36.7) | 12(41.4)   | 23    |       |
|          | Líquidas     | 1 (3.3)   | 0 (0)      | 1     |       |
| B3       | Duras        | 19 (63.3) | 16(55.2)   | 35    | 0.524 |
|          | Pastosas     | 11(36.7)  | 13(44.8)   | 24    |       |
|          | Líquidas     | 0 (0)     | 0 (0)      | 0     |       |

ND – Não definido

\*Teste Exato de Pearson

#### 2.3.4 Frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal

A evolução da frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal será apresentada para cada sequência de intervenção.

Na evolução das medianas da frequência evacuatória ao longo do experimento em cada grupo, o uso do probiótico parece ter um efeito adicional em relação placebo. A mediana na fase do probiótico é maior em relação à fase placebo. Ocorre também uma queda nessa medida quando se passa da fase do probiótico para o placebo e um aumento na ordem inversa da intervenção. O gráfico 3 ilustra essa evolução.

Em relação à dor para evacuar e dor abdominal, o probiótico também parece estar associado a um efeito adicional. Observa-se para ambas variáveis inicialmente uma diminuição da ocorrência desses sintomas com um aparente efeito adicional na intervenção com o probiótico. A tabela 3 ilustra esses dados.

Gráfico 3 – Evolução das medianas da frequência evacuatória para cada sequência de intervenção

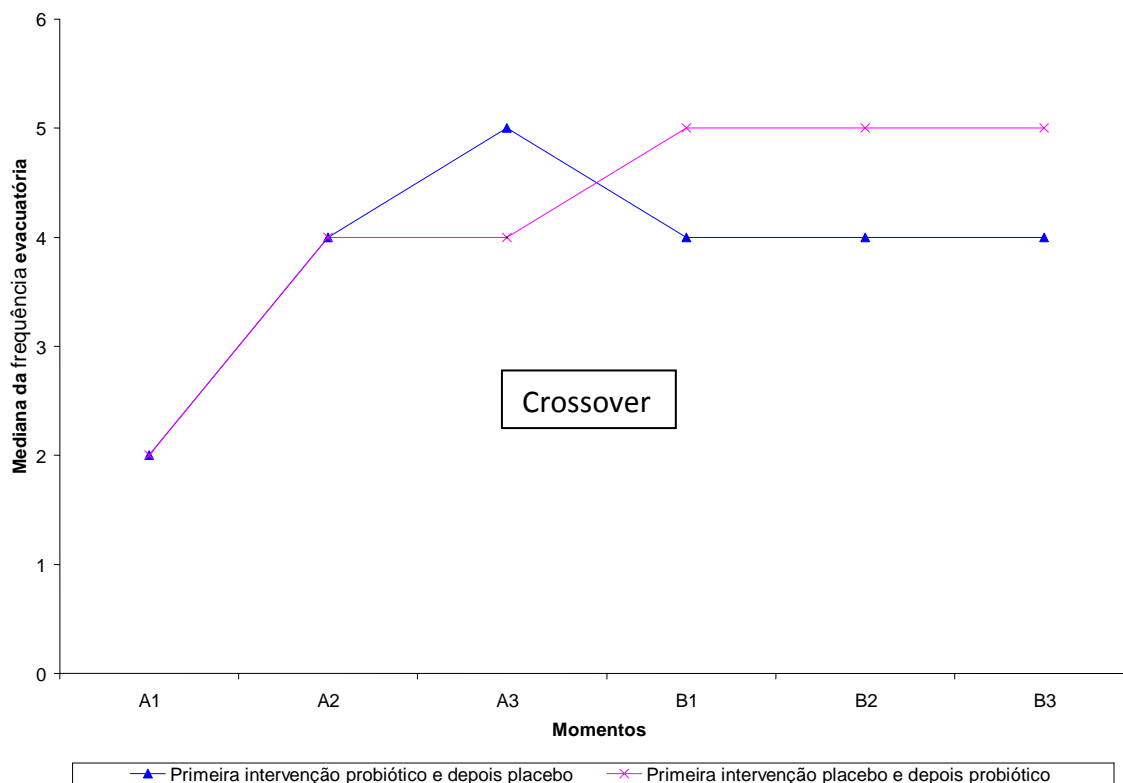


Tabela 3 – Evolução das variáveis dor para evacuar e dor abdominal para cada sequência de intervenção.

| Variáveis     | Momento | Placebo-Probiótico |                   | Probiótico- Placebo |                   |
|---------------|---------|--------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
|               |         | Média±Desvio       | Mediana (Min-Máx) | Média±Desvio        | Mediana (Min-Máx) |
| Dor evacuar   | A1      | 1.55 ± 1.45        | 1 (0-7)           | 1.07 ± 0.98         | 1 (0-3)           |
|               | A2      | 1.48 ± 1.90        | 1 (0-7)           | 0.7 ± 1.20          | 0 (0-5)           |
|               | A3      | 1.69 ± 2.09        | 1 (0-7)           | 0.83 ± 1.20         | 0 (0-4)           |
|               | B1      | 1.55 ± 1.82        | 1 (0-7)           | 0.57 ± 1.07         | 0 (0-5)           |
|               | B2      | 1.0 ± 1.62         | 1 (0-7)           | 0.47 ± 0.68         | 0 (0-2)           |
|               | B3      | 0.76 ± 1.02        | 1 (0-4)           | 0.43 ± 0.50         | 0 (0-1)           |
| Dor abdominal | A1      | 1.62 ± 1.39        | 1 (0-6)           | 1.57 ± 1.85         | 1 (0-7)           |
|               | A2      | 1.41 ± 1.64        | 1 (0-7)           | 0.93 ± 1.36         | 1 (0-6)           |
|               | A3      | 1.41 ± 1.86        | 1 (0-7)           | 0.60 ± 1.07         | 0 (0-5)           |
|               | B1      | 1.14 ± 1.43        | 1 (0-5)           | 0.57 ± 1.04         | 0 (0-4)           |
|               | B2      | 0.72 ± 1.03        | 0 (0-3)           | 0.40 ± 0.67         | 0 (0-3)           |
|               | B3      | 0.59 ± 0.83        | 0 (0-3)           | 0.53 ± 0.68         | 0 (0-3)           |

### 2.3.5 Comparação placebo vs probiótico para frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal

A análise da comparação das intervenções placebo vs probiótico foi baseada na análise da diferença das distribuições das variáveis nos diferentes momentos (A1xB3, A2xB3, A3xB3) para cada sequência de intervenção. Foi utilizado o teste Wilcoxon para comparar essa diferença.<sup>17</sup>

Para fazer a análise, inicialmente foi realizada a diferença da distribuição entre placebo e probiótico para a sequência de intervenção placebo-probiótico e a diferença da distribuição entre probiótico e placebo para a sequência de intervenção probiótico-placebo. A diferença entre as fases (placebo-probiótico ou probiótico-placebo) para cada grupo com sequência específica de intervenção foi comparada pelo teste Wilcoxon.

Tabela 4- Comparação placebo vs probiótico para frequência, dor para evacuar e dor abdominal

| Variáveis                       | Sequência de intervenção        | Média <sub>DIF</sub> | Mediana <sub>DIF</sub> | Q3-Q1 | Desvio | Valor p <sup>*1</sup> |
|---------------------------------|---------------------------------|----------------------|------------------------|-------|--------|-----------------------|
| <b>Frequência</b><br>A1 x B3    | Placebo-Probiótico <sup>2</sup> | -1,90                | -2,00                  | 4,00  | 2,34   | 0,697                 |
|                                 | Probiótico-Placebo <sup>3</sup> | -1,57                | -1,00                  | 2,75  | 1,76   |                       |
| A2 x B3                         | Placebo-Probiótico              | -0,69                | 0,00                   | 2,00  | 2,02   | 0,286                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | -0,03                | 0,00                   | 2,00  | 1,73   |                       |
| A3 x B3                         | Placebo-Probiótico              | -0,93                | 0,00                   | 2,00  | 1,77   | 0,012                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,27                 | 0,00                   | 1,75  | 1,51   |                       |
| <b>Dor evacuar</b><br>A1 x B3   | Placebo-Probiótico              | 0,79                 | 1,00                   | 1,00  | 1,08   | 0,796                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,63                 | 1,00                   | 1,00  | 0,85   |                       |
| A2 x B3                         | Placebo-Probiótico              | 0,72                 | 0,00                   | 1,00  | 1,53   | 0,040                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,27                 | 0,00                   | 0,00  | 1,11   |                       |
| A3 x B3                         | Placebo-Probiótico              | 0,93                 | 0,00                   | 1,00  | 1,53   | 0,046                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,40                 | 0,00                   | 0,00  | 1,10   |                       |
| <b>Dor abdominal</b><br>A1 x B3 | Placebo-Probiótico              | 1,03                 | 1,00                   | 2,00  | 1,30   | 0,583                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 1,03                 | 1,00                   | 1,00  | 1,73   |                       |
| A2 x B3                         | Placebo-Probiótico              | 0,83                 | 0,00                   | 1,00  | 1,39   | 0,111                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,40                 | 0,00                   | 1,00  | 1,33   |                       |
| A3 x B3                         | Placebo-Probiótico              | 0,83                 | 0,00                   | 1,00  | 1,63   | 0,015                 |
|                                 | Probiótico-Placebo              | 0,07                 | 0,00                   | 0,00  | 0,74   |                       |

\*1 Teste Wilcoxon

2 Placebo-Probiótico=Placebo menos Probiótico

3 Probiótico-Placebo=Probiótico menos placebo

Ao nível de significância de 5%, conclui-se que todas variáveis (frequência, dor para evacuar e dor abdominal) tiveram efeito do probiótico em relação ao placebo ao comparar os momentos A3 x B3. Já nos momentos A2 X B3 houve diferença significativa para dor para evacuar. Pode-se inferir que o efeito foi positivo para o probiótico em relação a todas as variáveis.

## 2.4 Segurança e tolerância

O probiótico *B. longum* foi seguro e bem tolerado durante o protocolo de intervenção. Nenhuma criança apresentou complicação grave que fosse motivo de interrupção do protocolo. Quatro participantes apresentaram diarreia aguda com resolução espontânea (três na fase probiótico e um no placebo).

## 2.5 Discussão

A CI é uma queixa frequente em Pediatria.<sup>1</sup> No presente estudo, a prevalência encontrada de CICF foi de 23.42% (67/286 estudantes entrevistados). Esse dado é compatível com a prevalência da CI infantil descrita no mundo (0.7 a 29.6%),<sup>18</sup> no Brasil (14.7 a 38.4%)<sup>1</sup> e também em Belo Horizonte (22%).<sup>19</sup>

O diagnóstico da CICF foi feito predominante no sexo feminino (79.6%), sendo que a amostra inicial randomizada era constituída por proporção semelhante entre os gêneros feminino (54,9%) e masculino (45,10%). Uma possível justificativa se relaciona aos objetivos da intervenção, critérios diagnósticos e de exclusão utilizados. O objetivo do presente trabalho é a abordagem da CIC não complicada. Por isso, foram considerados pacientes com CICF pelos critérios de Roma III que visam um diagnóstico precoce da doença. A maior gravidade da CI relacionada à presença de escape fecal<sup>12</sup> foi motivo de exclusão de três sujeitos da seleção inicial. Estudos anteriores que mostraram que a CI foi mais comum no gênero masculino decorreram da maior frequência de escape em meninos.<sup>1,20</sup> Logo, o perfil de CI nesse gênero difere do que era o objeto de interesse nesse trabalho. Além disso, a maioria das alunas selecionadas encontra-se na faixa etária de 10-15 anos. Em adolescentes, a CI é mais comum no sexo feminino.<sup>1,21</sup> Logo, a população selecionada era constituída de pacientes com CIC leve com predomínio do gênero feminino. O fato de 84.6%

do total da amostra não ter história pregressa de tratamento para CI reforça a característica da CICF da população a ser estudada.

O uso do iogurte suplementado com *B. longum* na abordagem da CIC não complicada no presente ensaio clínico duplo mascarado crossover produziu efeito positivo na frequência evacuatória, dor abdominal e dor para evacuar. Há razões para o uso de probióticos como potencial terapia no tratamento da CI. Há evidências de diferenças entre a microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e constipados. Mas, ainda não é estabelecida se essa disbiose intestinal (alteração do ecossistema) é um fator secundário à doença ou fator contribuinte dessa.<sup>3,7,10</sup> A administração de probióticos parece restaurar o equilíbrio da microbiota e secundariamente, o peristaltismo intestinal. A produção de ácidos (ácido butírico, propiônico e láctico) por esses microrganismos pode alterar o pH colônico e afetar também a reabsorção de água e eletrólitos contribuindo para a hidratação do bolo fecal e para aceleração do trânsito intestinal.<sup>22,23,24,25</sup> A melhora da dor abdominal pode estar relacionada à melhora da CI, mas parece estar ligada à diminuição da hipersensibilidade visceral por efeitos anti-inflamatórios na mucosa entérica pelos probióticos descrita em estudos com ratos.<sup>3,7,26</sup>

Estudos anteriores foram realizados para avaliar o uso dos probióticos para tratamento da CICF em crianças. Efeitos positivos foram observados por Bekkali et al (2007)<sup>3</sup> e Ling-Nan Bu et al (2007).<sup>11</sup> O primeiro autor utilizou uma mistura de probióticos contendo  $4 \times 10^9$  UFC no total de bifidobactérias (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*) e lactobacilos (*L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus*) por 4 semanas em crianças (4-16 anos) com CICF (critérios de Roma III). Houve melhora da frequência evacuatória e diminuição da dor abdominal. Não houve alteração da consistência das fezes.<sup>3</sup> No outro estudo, Ling-Nan Bu et al utilizou  $8 \times 10^8$  *Lactobacillus casei rhamnosus* (Lcr 35) em crianças (menores de 10 anos) por 4 semanas. Foram 3 grupos de intervenção (probiótico, placebo e óxido de magnésio). Os pacientes recebendo óxido de magnésio ou probióticos tiveram maior frequência evacuatória e percentagem de sucesso terapêutico, menor uso de clister glicerinado e fezes endurecidas em relação ao grupo placebo. Dor abdominal ocorreu com frequência inferior no grupo com probiótico.<sup>11</sup> As intervenções realizada por Bekkali et al ( $4 \times 10^9$  UFC por 4 semanas) e Ling-Nan Bu et al ( $10^8$  UFC por 4 semanas) utilizaram doses e tempo de tratamento semelhante ao presente estudo ( $10^9$  UFC por 5 semanas). Porém, Banaszkievick

et al não conseguiram demonstrar diferença significativa entre placebo e probiótico utilizando *Lactobacillus GG* em dose semelhante e tempo de intervenção superior em crianças com CICF ( $2 \times 10^9$  UFC por 12 semanas). Nesse estudo, a associação com lactulose em ambos os grupos pode ter sido a causa da ineficácia do probiótico.<sup>10</sup>

Em relação ao tempo de administração de probióticos necessário para melhora dos sintomas, observou-se um intervalo de 5 semanas no presente estudo para dor abdominal e frequência evacuatória e de 3 semanas apenas para dor para evacuar. Ling-Nan Bu et al observaram efeitos na terceira semana com o probiótico utilizado.<sup>11</sup> Além de um tempo para início da melhora, parece também ser necessária uma administração prolongada do microrganismo para a manutenção do efeito probiótico. Esse fato é reforçado pela queda da frequência evacuatória após a mudança de intervenção (gráfico 3) e pela análise placebo vs probiótico (tabela 4) para outras variáveis (dor abdominal e dor para evacuar).

A dose do probiótico e tempo para abordagem da CICF não são bem definidos até o momento.<sup>10</sup> A concentração necessária para obtenção de efeito clínico em geral é citada como superior a  $10^6$  UFC no delgado e superior a  $10^8$  UFC no cólon. A concentração no delgado foi proposta devido à relação com efeitos clínicos na diarreia em indivíduos com essa colonização bacteriana. No cólon, essa concentração representa o limite inferior da microbiota dominante.<sup>27</sup> Uma preparação com probióticos deve conter uma quantidade mínima de UFC. As doses usadas variam em estudos terapêuticos e preventivos. Uma ingestão diária de  $10^6$  a  $10^9$  UFC tem sido reportada como a dose necessária para uma proposta terapêutica. É também citado que pessoas com sua microbiota já estabelecida, a influência dos probióticos limita-se, em geral, ao período em que são empregados. Assim, para que a manutenção da mudança desejada na microbiota intestinal é necessária o consumo contínuo e indefinido desses microrganismos.<sup>28</sup> Para melhor definição são necessários estudos sobre a farmacocinética dos probióticos,<sup>5</sup> além de outros estudos específicos em CICF.

Outra questão a ser analisada é a determinação das espécies com função específica na CICF. Um achado de uma espécie específica não pode ser referido à outra.<sup>3,7</sup> O sucesso terapêutico prévio da *B. longum* na CICF infantil foi citada por Bekkali et al, porém em associação a outros probióticos. Esse fato limita a comparação com esse estudo, pois utilização da mistura de probióticos impede a

determinação específica da função da *B. longum* na CIC nessa intervenção. Outra limitação metodológica que merece ser destacada é não existência de grupo controle neste estudo.<sup>3</sup> A utilização da *B. longum* no presente ensaio foi baseado nas características descritas anteriormente (item 2.2.4). Além disso, o sequenciamento recente do genoma desse microrganismo mostrou uma alta adaptação ao trato digestivo humano em termos de metabolismo, capacidade de adesão e atividade imunomodulatória.<sup>29</sup>

Outra consideração que merece destaque refere-se ao controle de qualidade quando se utilizam produtos com probióticos. Vários pesquisadores quando analisaram esses acharam microrganismos probióticos não viáveis e alguns patógenos que não deveriam fazer parte do produto.<sup>6,30</sup> A realização de estudo prévio por Mazochi et al demonstrou ser possível desenvolver um produto probiótico através da produção do iogurte de leite de cabra adicionado a *B.longum*.<sup>16</sup>

As análises estatísticas realizadas no estudo levaram em consideração o desenho crossover da presente intervenção. Inicialmente, foi observado efeito positivo em relação a consistências das fezes ao comparar probiótico e placebo no momento A3. Houve também efeito significativo para intervenção com probiótico nas variáveis: frequência evacuatória, dor para evacuar e dor abdominal. Porém, foi observado um aumento da frequência evacuatória e diminuição da dor abdominal e dor para evacuar também para o placebo (tabela 3). A utilização do iogurte de leite de cabra adicionado à água peptonada garantiu um placebo com características semelhantes ao produto probiótico. Porém, a real influência das bactérias fermentadoras do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) na CICF das crianças nesse estudo não pode ser estabelecida. Existe discussão sobre a inclusão dessas bactérias entre aquelas consideradas realmente probióticas. Se por um lado, a capacidade em atingir o TGI em altos números é questionada, por outro, elas parecem melhorar a digestão da lactose e possuem efeitos imunológicos.<sup>5,31</sup> No estudo de Mazochi et al, a concentração do *L. bulgaricus* não foi definida por limitações técnicas. A do *Streptococcus thermophilus* foi de  $10^7$  a  $10^8$ /ml. <sup>16</sup> A utilização de outro grupo de intervenção seria necessário para avaliação da função do iogurte não suplementado na CI. Entretanto, a dificuldade na elaboração de um placebo ideal

(semelhanças de sabor, consistência e cor) quando se utiliza iogurte em um experimento é ainda um fator limitante.

A segurança e boa tolerância ao uso do probiótico encontrados nesse estudo são semelhantes aos achados de outras intervenções.<sup>3,7,10,11</sup> Como se tratam de organismos vivos, teoricamente, os probióticos podem ser responsáveis por infecções. É importante destacar que as contraindicações ao uso do probióticos (imunossupressão, hospitalização prolongada e intervenções cirúrgicas<sup>5,27</sup>) foram critérios de exclusão na seleção realizada.

## 2.6 Conclusão

Apesar de não haver evidências suficientes até o momento comprovando a eficácia dos probióticos na CICF principalmente na faixa etária pediátrica,<sup>5,6,7</sup> a suplementação de um iogurte com o probiótico *B. longum* foi associada a uma melhora estatisticamente significativa na CICF não complicada de crianças e adolescentes no presente estudo. Os resultados encorajam a realização de novos ensaios clínicos randomizados, assim como, a busca de uma melhor compreensão desses microrganismos anteriormente citados apenas como parte de uma Medicina alternativa.



## Referências

1. Morais MB, Maffei HVL. Constipação intestinal. J Pediatr. 2000; 76 Suppl 2: 147-56.
2. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Evaluation and Treatment of Constipation in Infants and Children: Recommendations of North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2006; 43(3): e1-13
3. Bekkali N, Bongers MEJ, Berg MMVB, Liem O, Benninga MA. The role of probiotics mixture in the treatment of childhood constipation: a pilot study. Nutr J. 2007 Aug; 6:17.
4. Voskuil W, de Lorijn F, Verwijs W, Hogeman P, Heijmans J, Mäkel W, Taminiou J, Benninga M. PEG 3350 (Transipeg) versus lactulose in the treatment of childhood functional constipation: a double blind, randomised, controlled, multicentre trial. Gut. 2004 Nov; 53(11):1590-4.
5. Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S. Probiotic in Gastrointestinal Diseases in Children: Hard and Not-So-Hard Evidence of Efficacy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2006; 42 (5): 454-75
6. Vanderplas Y, Benninga M. Probiotics and Functional Gastrointestinal Disorders in Children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; Suppl 2: 107-9
7. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. World J Gastroenterol. 2010 Jan 7; 16(1):69-75.
8. Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: What are they? What are their effects on gut physiology? Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2003 Oct; 17(5):711-24.
9. Marteau P, Shanahan F. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. Best Pract Res Clin Gastroenterol; 2003: 17 (Pt 5): 725-40.
10. Banaszkiwicz A, Szajewska H. Ineffectiveness of Lactobacillus GG as an adjunct to lactulose for treatment of constipation in children: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. J Pediatr. 2005 Mar; 146 (3): 364-9.
11. Bu LN, Chang MH, Ni Y, Chen LH, Cheng CC. *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr 35 in children with chronic constipation. Pediatr Int. 2007; 49:485-90.
12. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes C, Hyams JS, Staiano A, ET al. Childhood Functional Gastroenterology Disorders Children/ Adolescents. Gastroenterol. 2006; 130: 1527-37

13. Chow SC, Shao J, Wang H. Sample size calculations in clinical research. 2nd edition. USA. 2008
14. Heaton KW, Radvan J, Cripps H, Mountford RA, Braddon FE, Hughes AO. Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study. *Gut*. 1992 Jun; 33(6):818-24.
15. Kwon HS, Yang EH, Lee SH, Yeon SW, Kang BH, Kim TY. Rapid identification of potentially probiotic *Bifidobacterium* species by multiplex PCR using species-specific primers based on the region extending from 16S rRNA through 23S rRNA. *FEMS Microbiology Letters*, v. 250, p. 55-62, 2005.
16. Mazochi V. Produção de iogurte probiótico com leite de cabra adicionado de *Bifidobacterium spp* [Tese]. Belo Horizonte: Centro Universitário de Belo Horizonte; 2009.
17. Fleiss JL. The design and analysis of clinical experiments. 1st ed. New York; 1986.
18. van den Berg MM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of childhood constipation: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2006 Oct; 101 (10): 2401-9.
19. Torres MF, Figueiredo RCP, Penna FJ. Constipação intestinal. In: Leão E, Corrêa EJ, Mota JAM, Viana MB. *Pediatria Ambulatorial*. 4ª edição. Belo Horizonte: COOPMED Editora Médica; 2005. p. 366-78.
20. Maffei HVL, Moreira FL, Kissimoto M, Chaves SM, ElfaróA, Aleixo AM. História clínica e alimentar de crianças atendidas em ambulatório e gastroenterologia pediátrica com constipação intestinal funcional e suas possíveis complicações. *J Pediatr* 1994; 70:280-6.
21. Melo MCB, Torres MRF, Guimarães EV, Figueiredo RCP, Penna JF. Constipação intestinal. *Revista Médica de Minas Gerais*. 2003; 13 (4 Suppl 2): 35-43.
22. Meance S, Cayuela C, Turchet P et al. A fermented milk with a *Bifidobacterium* probiotic strain DN-173010 shortened oro-fecal gut transit time in elderly. *Microb Ecolin Health Dis* 2001; 13: 217–22.
23. Bouvier M, Meance S, Bouley C et al. Effects of consumption of milk fermented by the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* DN-173010 on colonic transit times in healthy humans. *Biosci Microflora* 2001; 20: 43–48.
24. Salminen S, Salminen E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1997; 222:458.

25. Koebnick C, Wagner I, Leitzmann P, Stern U, Zunft HJF. Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. *Can J Gastroenterol*. 2003 Nov; 17(11):655-9.
26. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut*. 2003 Jul; 52(7):975-80.
27. Marteau P, Shanahan F. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*; 2003; 17 (Pt 5): 725-40.
28. Chen CC, Walker WA. Probiotics and prebiotics: role in clinical disease states. *Adv Pediatr*. 2005; 52:77-113
29. Schell MA, Karmirantzou M, Snel B, Vilanova D, Berger B, Pessi G et al. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Oct 29; 99(22):14422-7.
30. Quigley EMM. Prebiotics and probiotics modifying and mining the microbiota. *Pharmacol Res*. 2010 Jan; 18:1-6.
31. Guarner F, Perdigon G, Corthier G, Salminen S, Koletzko B, Morelli L. Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br J Nutr*. 2005; 93(6): 783-6.

## Apêndice 1



**Tipo 1:** Caroços duros e separados, como nozes. Difíceis de passar.



**Tipo 2:** Salsicha-moldada, mas granuloso.



**Tipo 3:** Como uma salsicha, mas com fissuras na superfície.



**Tipo 4:** Como uma serpente, suave e macio.



**Tipo 5:** Bolhas suaves com bordas nítidas. Passa facilmente.