



CELIA APARECIDA VALBON BELELI

**EFEITO DO PREBIÓTICO 4'
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM CONSTIPAÇÃO
FUNCIONAL**

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

CELIA APARECIDA VALBON BELELI

EFEITO DO PREBIÓTICO 4'
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM CONSTIPAÇÃO
FUNCIONAL

Orientadora: Profa. Dra. Elizete Aparecida Lomazi

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Ângela Reis de Góes Monteiro Antonio

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração em Saúde da Criança e Adolescente.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR CELIA APARECIDA VALBON BELELI, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. ELIZETE APARECIDA LOMAZI.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS
2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

B411e Beleli, Celia Aparecida Valbon.
 Efeito do prebiótico 4'galactooligossacarídeo em
 crianças e adolescentes com constipação funcional /
 Celia Aparecida Valbon Beleli. -- Campinas, SP : [s.n.],
 2013.

 Orientador : Elizete Aparecida Lomazi.
 Coorientador : Maria Ângela Reis de Góes Monteiro
 Antonio.

 Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de
 Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

 1. Criança. 2. Constipação intestinal. 3.
 Oligossacarídeo. I. Lomazi, Elizete Aparecida. II.
 Antonio, Maria Ângela Reis de Góes Monteiro, 1959-.
 III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
 Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Effect of the prebiotic 4' galactooligosaccharide in children and adolescent with functional constipation

Palavras-chave em inglês:

Child

Constipation

Oligosaccharide

Área de concentração: Saúde da Criança e Adolescente

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

Elizete Aparecida Lomazi [Orientador]

Júlia Laura Delbue Bernardi

Emília de Faria Carniel

Data da defesa: 23-08-2013

Programa de Pós-Graduação: Saúde da Criança e do Adolescente

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

CELIA APARECIDA VALBON BELELI

Orientadora **PROFA. DRA. ELIZETE APARECIDA LOMAZI**

MEMBROS:

1. **PROFA. DRA. ELIZETE APARECIDA LOMAZI**



2. **PROFA. DRA. JÚLIA LAURA DELBUE BERNARDI**



3. **PROFA. DRA. EMILIA DE FARIA CARNIEL**



Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: vinte e três de agosto de dois mil e treze

Agradecimento especial

*À professora Dra Elizete Aparecida Lomazi,
pela paciência, destreza, confiança, apoio e carinho a mim
dedicado nessa jornada.*

Em primeiro lugar a Deus.

As crianças participantes e seus pais, cuja confiança possibilitaram a realização desse estudo.

Aos docentes da Saúde da Criança e Adolescente – FCM

Em especial a Profa Dra Maria Ângela Góes Monteiro Antonio, pelo grande trabalho de triagem e avaliação dos pacientes nos Centros de Saúde.

A Profa Dra Gláucia Pastore, pela confiança.

A Profa Dra Rosangela dos Santos pela participação e contribuição na realização desse projeto.

A estatística Cleide pela importante ajuda.

Aos meus pais, que mesmo não estando mais presentes, tenho certeza que estiveram comigo nessa jornada.

Ao meu marido, companheiro, amigo, pelo carinho, paciência e colaboração.

Ao meu filho Gabriel, pelo incentivo.

Em especial a minha filha Mariana pelo amor, dedicação, colaboração, paciência, pelo constante encorajamento e maior incentivadora desse estudo.

*“O caminho só existe quando você passa”
S Rosa*

Constipação é um sintoma comum na prática pediátrica. É usualmente definida em termos da dificuldade da passagem das fezes da consistência e frequência das evacuações. Uma dieta rica em fibras alimentares pode promover efeitos benéficos no tratamento da constipação. Além das fibras, alimentos funcionais, como os prebióticos, têm sido considerados úteis na regulação do hábito intestinal. Prebióticos são definidos como componentes alimentares não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem de maneira seletiva o crescimento de bactérias potencialmente desejáveis no intestino, principalmente no cólon. Atualmente existem poucos ensaios clínicos avaliando prebióticos no tratamento da constipação em crianças. Este ensaio clínico teve como objetivo avaliar o efeito do Galactooligossacarídeo (GOS) em crianças constipadas. Um ensaio com duração de 75 dias, com intervenção do tipo duplo-cego, controlada por placebo e delineamento “*cross over*” com 2 sequências de avaliação e 2 tratamentos, placebo e galactooligossacarídeo, incluiu 20 crianças (4 a 16 anos) com constipação funcional definida pelos critérios de ROMA III. As crianças receberam 6g de GOS ou maltodextrina, as soluções foram ingeridas por 30 dias, seguidas de período de “*washout*” de 15 dias e, após, por mais 30 dias, utilizaram maltodextrina ou GOS, de maneira alternada com o produto ingerido nos primeiros 30 dias. O estudo foi montado segundo um delineamento *crossover* (GOS e PLACEBO). Onze pacientes foram avaliados de acordo com a sequência GOS/placebo e nove pacientes com a sequência PLACEBO/GOS. O escore de gravidade foi medido no início, 2^a e 4^a semanas em cada experimento. Escores clínicos, elaborados para esse ensaio, foram utilizados para avaliar o efeito dos produtos considerando: frequência das evacuações, presença de dor/desconforto/esforço na evacuação, consistência das fezes e perda de apetite/saciedade precoce. Os escores foram calculados no dia zero (D0), 15^o dia (D15) e 30^o dia (D30) de estudo, em cada fase do “*cross over*”. Duas avaliações

do tempo de trânsito oroanal com carvão ativado foram realizadas no D0 e D30 de cada sequência. Análise descritiva através de medidas de posição e dispersão foram realizadas para variáveis numéricas. Para a análise deste estudo utilizou-se ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%. O GOS apresentou efeito significativo comparado ao placebo, diminuindo a consistência das fezes com $p < 0,0001$ e aumentando a frequência das evacuações, $p=0,0014$. Os valores dos testes de tempo de trânsito oroanal foram significativamente inferiores no período de uso do GOS com $p < 0,0001$. A utilização do GOS em crianças com constipação funcional leve foi efetiva na melhora clínica dos sintomas dessa constipação e pode representar uma medida alternativa na terapêutica dessa condição.

Palavras chave: criança, constipação intestinal e oligossacarídeo

Constipation is a common symptom in the pediatric clinics. It is usually defined in terms of difficulty of passage of faeces, faecal consistency and frequency of evacuation. A diet containing high amounts in fiber can promote beneficial effects constipation therapy. Beside the fiber, functional foods, such as prebiotics, have been considered useful to regulate bowel movements. Prebiotic is defined as nondigestible food components that affect the host for stimulating selectively growth of potentially beneficial bacteria in the intestines, specially the colon. Nowadays, there are few clinical trials evaluating prebiotic use for relieving constipation symptoms in children. This clinical trial aimed to evaluate the effect of Galactooligosaccharide (GOS) on constipated children. The trial consisted of a 75-day period double blind intervention, controlled with placebo and cross over delimitation, with two sequences of evaluation and two treatments, placebo and galactooligosaccharide. It included 20 children (4-16 years) with functional constipation defined by the ROMA III criteria. Children have received 6g of GOS or 6g Maltodextrin (placebo), the solution was ingested for 30 days, followed by a washout period of 15 days, and afterwards, 30 more days of GOS or Maltodextrin, alternately with the product ingested in the first 30 days. The study was designed according to crossover delimitation (GOS and Placebo). Eleven patients were evaluated according to the sequence GOS/placebo and nine patients with the sequence Placebo/GOS. A severity score was measured at the beginning, 2nd and 4th week in each experiment. Clinical scores, elaborated for this Trial, were used to evaluate the effect of the products considering: stool frequency, presence of pain/discomfort/effort during evacuation, consistency of stool and loss of appetite or early satiety. Scores were calculated at day zero (D0), 15th day (D15) and 30th day (D30) of the study, in each phase of the "crossover". Oroanal transit evaluation was performed on D0 and D30 of each sequence, by activated charcoal ingestion.

Descriptive analysis through measures of position and dispersion were realized for numerical variables. ANOVA was used for the analysis of GOS effect. The significance level assumed for the statistical tests was 5%. The GOS presented significant effect compared to placebo, reducing the stool consistency $p < 0,0001$ and rising the stool frequency, $p = 0,0014$. The value of the oroanal transit time were significant lower in GOS period, $p < 0,0001$. GOS was effective at the improvement of mild constipation symptoms and may represent an alternative option for the therapy of this condition.

Key words: child, intestinal constipation and oligosaccharide

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|------------------------------------|
| AGCC | - Ácidos graxos de cadeia curta |
| CI | - Constipação Intestinal |
| CIF | - Constipação intestinal funcional |
| DO | - Dia zero |
| D15 | - Dia quinze |
| D 30 | - Dia trinta |
| FOS | - Frutooligossacarídeo |
| G → P | - Sequência GOS – Placebo |
| GOS | - Galactooligossacarídeo |
| P | - Placebo |
| P → GOS | - Sequência Placebo – GOS |
| UBS | - Unidade Básica de Saúde |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Representação esquemática do estudo, com visitas quinzenais | 54 |
| Figura 2 - Representação fotográfica dos produtos utilizados. Blindagem: FRASCO A / FRASCO B..... | 55 |
| Figura 3 - Escala fotográfica utilizada para identificação da consistência das fezes RUBIN & DALE. BMJ.2006;18:333(7577):1051-5 | 55 |

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Valor médio e desvio padrão do escore clínico, nos tempos D0, D15 e D30, de acordo com a sequência G→P e P→G de tratamento empregada em cada um dos períodos (1° e 2° mês)..... 60
- Gráfico 2 - Valor médio e desvio padrão da frequência de evacuações de acordo com a sequência de tratamento empregada nos tempos D0, D15 e D30 dias em cada um dos períodos..... 62
- Gráfico 3 - Valor médio e desvio padrão da consistência das fezes de acordo com a sequência de tratamento empregada nos tempos D0, D15 e D30 em cada um dos períodos (1° e 2° mês)..... 63

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Valores de p para ANOVA no estudo duplo cego, placebo, <i>cross-over</i> , controlado, incluindo 20 crianças com constipação funcional, definidos pelos critérios de ROMA III. Crianças e adolescentes randomizados recebendo Maltodextrina como placebo ou prebiótico GOS. | 65 |
| Tabela 2 - Valores dos escores das médias ajustadas do tempo de trânsito oroanal, avaliado pela ingestão do carvão ativado, e medido em dias das 20 crianças, comparando GOS e placebo, | 66 |

| | |
|--|------|
| RESUMO..... | xi |
| ABSTRACT | xiii |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | xv |
| LISTA DE FIGURAS | xvii |
| LISTA DE GRAFICOS..... | xix |
| LISTA DE FIGURAS | xxi |
| 1. INTRODUÇÃO | 25 |
| 1.1 Probióticos | 34 |
| 1.2 Prebióticos | 35 |
| 2. OBJETIVO..... | 41 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 45 |
| 3.1 Desenho do estudo:..... | 47 |
| 3.2 Sujeitos do estudo..... | 47 |
| 3.3 Critérios de exclusão..... | 48 |
| 3.4 Tamanho Amostral | 48 |
| 3.5 Aspectos Éticos..... | 48 |
| 3.6 Seleção de participantes | 49 |
| 3.7 Quantidade de GOS fornecido | 49 |
| 3.8 Coleta de dados | 49 |
| 3.9 Utilização dos produtos | 50 |
| 3.10 Utilização do GOS, placebo e carvão ativado | 51 |

| | |
|----------------------|-----|
| 4. RESULTADOS | 57 |
| 5. DISCUSSÃO | 67 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 81 |
| 7. REFERÊNCIAS | 85 |
| ARTIGO..... | 101 |
| ANEXOS | 115 |
| APÊNDICE | 123 |

1. INTRODUÇÃO

A constipação é uma entidade nosológica de alta prevalência e que determina repercussão na qualidade de vida. Uma série de fatores a tornam uma condição que merece investigação científica.

Constitui a queixa principal em 3% das consultas pediátricas e em 25% das consultas de gastroenterologia pediátrica⁽¹⁻³⁾. Estima-se que uma em cada dez crianças necessitará atenção médica para manejo da constipação em alguma época da vida. Afeta vários aspectos da vida das crianças, além dos sintomas físicos, os pacientes podem sofrer com restrições sociais e psicológicas⁽⁴⁻⁵⁾. A constipação é, ainda, uma condição frustrante para as crianças, pais e cuidadores que, inicialmente, não a consideram uma doença e, mais tarde, quando objetivam a cura farmacológica em curto prazo. O desfecho favorável depende do reconhecimento precoce, da adesão disciplinada às etapas terapêuticas e mudanças no estilo de vida⁽⁵⁻⁷⁾. Os custos da saúde com crianças com constipação chegam a 3,9 bilhões de dólares por ano, segundo um estudo Americano recente⁽²⁾. Finalmente, a etiologia da constipação ainda está por ser determinada e as recomendações terapêuticas não estão embasadas em ensaios com nível de evidência de qualidade⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Ate recentemente, a definição baseava-se apenas na frequência das evacuações, sem considerar a variação do hábito evacuatório em crianças saudáveis, essa consideração gerou implicações na comparação de estudos com relação à prevalência da condição e a padronização de protocolos terapêuticos.

Em 1984, a Sociedade Paulista de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição definiu constipação como uma “Síndrome que consiste na eliminação com esforço, de fezes ressecadas, independentemente do intervalo de tempo entre as evacuações”⁽¹¹⁾.

No mesmo período, a Sociedade Americana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição definiu constipação como o retardo ou dificuldade nas evacuações, presentes por duas semanas ou mais, e suficiente para causar desconforto significativo para o paciente⁽¹²⁾.

Essas definições são simples e adequadas para designar a entidade.

A constipação pode ser classificada como orgânica e funcional:

- a) Orgânicas: são aquelas em que o fator etiológico é conhecido: causas neurogênicas, endócrinas e metabólicas, uso de medicamentos e de algumas drogas.
- b) Funcional, denominada constipação crônica funcional (CICF) segue apresentando fator etiológico, determinante e agravante desconhecidos e correspondem a 95% dos pacientes constipados na faixa etária⁽¹³⁾.

Em 2005, foi proposta uma padronização na nomenclatura da constipação intestinal, conhecidos como Consenso de Paris⁽¹⁴⁾, no qual foram excluídos os termos como “*soiling*” (escape fecal), uma complicação da constipação a longo prazo que hoje é designada de incontinência retentiva e “*encoprese*”; evacuação em lugares socialmente indesejáveis, que hoje é determinado por incontinência fecal não retentiva e não associada a condições orgânicas estruturais. Em 2005, Maffei & Morais⁽¹⁵⁾ orientaram a possibilidade de crianças cuja única manifestação da constipação poderia ser a presença de fezes endurecidas, em cíbalos ou cilíndricas com rachaduras (2005). No I Congresso Mundial de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica⁽¹⁵⁻¹⁶⁾, a constipação foi considerada como um sintoma definido pela ocorrência de qualquer manifestação, independente do intervalo das evacuações. São elas:

- Eliminação de fezes duras, em cíbalos, na forma de seixos ou cilíndricas com rachaduras;
- Dificuldade ou dor no momento da evacuação;
- Eliminação esporádica de fezes muito volumosas que podem entupir o vaso sanitário;
- Frequência de evacuações inferior a três vezes por semana, exceto em crianças com aleitamento materno exclusivo.

Usualmente definida em termos de mudanças na frequência, tamanho, consistência ou dificuldade na passagem das fezes^(3, 17). A eliminação de fezes

endurecidas pode ser acompanhada de dor, dificuldade ou esforço; pode ocorrer desde escape fecal secundário a retenção fecal ou até aumento no intervalo entre as evacuações (menos que três vezes por semana). Muitas vezes, também podem ocorrer laivos de sangue na superfície das fezes^(3, 18).

Em 2006, foram publicados critérios para o diagnóstico das doenças funcionais, denominados ROMA III, de acordo com a faixa etária dos pacientes lactentes e pré-escolares; escolares e adolescentes e adultos⁽¹⁹⁻²⁰⁾. Esse critério é considerado o mais consensual entre os critérios diagnósticos de constipação e inclui a presença de pelo menos duas das seguintes manifestações, por pelo menos um mês, em crianças menores de quatro anos de idade⁽¹⁹⁾:

- Frequência de evacuação ≤ 2 vezes por semana;
- Pelo menos um episódio de incontinência fecal involuntária de fezes por semana, após aquisição do controle esfinteriano anal;
- Retenção excessiva de fezes (comportamento de retenção para evitar a defecação);
- Evacuações com dor ou esforço intenso à eliminação das fezes;
- Presença de grande quantidade de fezes no reto;
- Eliminação de fezes com grande diâmetro, que podem entupir o vaso sanitário.

A fisiopatologia da constipação intestinal é complexa, heterogênea e multifatorial. A habilidade para a defecação depende de vários fatores como práticas alimentares, círculo vicioso de evacuações dolorosas (gerando comportamento de retenção fecal), distúrbios de motilidade intestinal, além de fatores constitucionais, hereditários⁽²¹⁾, assim como fatores endógenos que englobam os mecanismos fisiológicos que regulam a motilidade gastrointestinal⁽¹³⁾.

É importante considerar a mudança na frequência das evacuações, dependendo da idade da criança saudável. Há um declínio na frequência de 4 evacuações/dia durante as primeiras semanas de vida para 1 a 2 por dia a partir dos 4 anos de idade⁽²²⁾.

A constipação é quase sempre diagnosticada em crianças acima de um ano de idade. Grande parte das crianças com constipação costuma beneficiar-se da terapia usual o que dispensaria exames complementares, é a chamada constipação intestinal aguda. Normalmente a resposta é rápida, pois são feitas correções de fatores precipitantes da constipação, como o aumento da ingestão de fibras alimentares na dieta, e posteriormente e quando esta medida não é suficiente são introduzidos laxativos por 3 a 5 dias⁽²³⁻²⁴⁾.

Na prática clínica verifica-se grande heterogeneidade entre as crianças com constipação, isso pode ser devido a diferentes fatores fisiopatológicos que estão envolvidos na gravidade e evolução do quadro. A intervenção precoce no tratamento da constipação aumenta as chances da resolução em curto prazo do problema.

O tratamento clínico para a constipação crônica funcional consiste de quatro etapas⁽²⁵⁻²⁶⁾:

- Educação para a criança e familiares sobre a origem da incontinência fecal;
- Desimpactação;
- Prevenção de novo acúmulo de fezes através de abordagens comportamentais (registros sobre o diário intestinal) e a intervenção dietética como o aumento do consumo de alimentos ricos em fibras e hidratação, e se necessário agente laxativo;
- Recondicionamento para hábitos intestinais adequados, proporcionando segurança para a criança e familiares;

Entre as orientações dietéticas, a ingestão de fibras alimentares tem papel de destaque na regularização do hábito intestinal, determinando evacuações regulares e sem desconforto.

As fibras alimentares apresentam efeitos sobre a função gastrointestinal. A categoria de fibras dietéticas inclui uma gama de substâncias alimentares não digeridas, principalmente compostos de polissacarídeos não provenientes dos

amidos. Fibras viscosas como as gomas e pectina, também chamadas de fibras solúveis, formam uma solução que retardam o esvaziamento gástrico, melhoram o controle glicêmico e a constipação intestinal. Já as fibras insolúveis como celulose e lignina tem maior efeito sobre o trânsito do cólon e são considerados como laxantes, pois aceleram o trânsito intestinal⁽²⁷⁾. O efeito da fibra solúvel na função colônica é determinado pelo maior afluxo de fluídos e nutrientes no cólon proximal, combinado com a fermentação bacteriana, fatores que geram alteração da forma física e química da fibra dietética e também pela formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que agem como substrato energético para as células epiteliais exercendo um efeito trófico sobre o intestino grosso⁽²⁷⁾.

Já as fibras insolúveis são produtos de grãos inteiros, no entanto, muitos alimentos com base em grãos ricos em fibras não são bem aceitos por crianças, por razões ainda não determinadas⁽²⁸⁾.

Apesar da baixa aceitação da fibra alimentar por crianças, estudos mostram um efeito positivo da ingestão da mesma no tratamento da constipação em crianças e aumentar esse consumo é a primeira opção de tratamento para a constipação crônica em crianças saudáveis⁽²⁹⁻³⁰⁾.

As pesquisas apontam ainda a falta de um acordo quanto a quantidade recomendada de fibras e qual o tipo de fibra que traz mais benefícios para crianças constipadas.

A recomendação diária da quantidade da ingestão de fibra alimentar baseia-se na idade da criança e benefícios para a saúde. A quantidade estimada é o resultado da idade da criança a partir de 2 anos mais 5g de fibra/dia até atingir a idade de 20 anos. A média considerada segura é não ultrapassar a quantidade de 5 a 10g/dia mais a idade, essa quantidade tem também como objetivo promover um efeito preventivo da constipação crônica⁽³¹⁾. Essa recomendação vem ao encontro com a da Academia Americana de Pediatria, que também recomenda a ingestão de valores correspondentes à idade + 5g de fibra para crianças, cujo cálculo foi baseado na recomendação do adulto de 14g de fibra por 1000 kcal⁽⁵⁾.

O aumento na ingestão de fibra na dieta é amplamente recomendado, e este deve ser o primeiro tratamento para crianças com constipação, mas muitas vezes esse tratamento é considerado de difícil aceitação pelo paciente pediátrico⁽³⁰⁾.

Pesquisas que estimam o consumo de fibra alimentar têm demonstrado menor ingestão por crianças com constipação quando comparadas aquelas sem constipação intestinal^(2, 32).

Na última década a participação da fibra alimentar na patogênese da constipação crônica funcional vem sendo amplamente investigada ⁽³³⁾.

Em uma meta análise de ensaios clínicos randomizados sobre o efeito da ingestão de fibra alimentar na constipação, Yang (2012)⁽³⁴⁾, encontrou que a frequência das evacuações aumentou significativamente no grupo de indivíduos que receberam suplementação de fibras alimentares. Quanto à consistência das fezes, os resultados mostraram uma tendência a favor do grupo de fibra, mas não foi encontrada diferença estatística.

Os autores concluíram que a fibra dietética não melhora a consistência das fezes, não diminui a necessidade do uso de laxantes ou determina mais conforto às evacuações. Mais ensaios clínicos são necessários para avaliar o efeito da fibra alimentar no tratamento da constipação, assim como avaliar sintomas gastrointestinais e eventos adversos que devem ser relatados, antes da fibra alimentar ser formalmente recomendada⁽³⁵⁾. Por outro lado, trabalho de Castillejo (2006)⁽³⁶⁾, demonstrou melhora da constipação intestinal com crianças de 3-10 anos de idade, através de um ensaio clínico duplo cego randomizado, utilizando um suplemento de casca de cacau rico em fibra alimentar. Como resultado encontrou melhora do trânsito intestinal dessas crianças que utilizaram o suplemento de fibra, assim como na melhora da consistência das fezes comparado com o grupo que não recebeu a fibra. O estudo de Markland (2013)⁽³⁷⁾, avaliou a prevalência e a associação da fibra alimentar e ingestão de líquido na constipação intestinal. Baseado em dados de 10.914 adultos, > 20 anos, entre

2005-2008 do *National Health and Nutrition Examination Surveys*. Como resultado final, o baixo consumo de líquido mostrou-se como um preditor da constipação entre a população estudada, ao contrário da fibra alimentar.

O ensaio clínico randomizado, duplo cego de Chmielewska *et al.* (2011)⁽³⁸⁾ avaliou o efeito da fibra glucomannan no tratamento da constipação funcional em crianças de 3 a 16 anos, como resultado não obtiveram diferença significativa entre a utilização da fibra e placebo malto dextrina.

Maffei (1994)⁽³⁹⁾, na cidade de Botucatu, interior de SP, analisou o consumo da quantidade de fibra ingerida por crianças com constipação intestinal. Constatou-se que quando há uma adesão ao maior consumo, existe uma correlação positiva entre a dieta com maior quantidade de fibra e melhora dos sintomas de constipação intestinal.

Estudo semelhante como o de Gomes (2003)⁽⁴⁰⁾, também demonstrou maior risco de constipação em crianças, associado ao consumo de fibra inferior a idade + 5g de fibra ao dia.

Martinez-Costa, *et al.* (2005)⁽⁴¹⁾, avaliaram o hábito alimentar de 62 crianças com constipação intestinal através do recordatório alimentar de 24h. O resultado apontou uma ingestão de fibras deficiente em mais de 60% das crianças analisadas.

Rubin (2006)⁽³⁾, em um estudo de caso controle demonstrou associação entre baixa ingestão de fibra alimentar e constipação intestinal em crianças.

Maffei (2011)⁽³⁰⁾, analisou por 24 meses a ingestão de fibra alimentar de 28 crianças e hábito intestinal de crianças constipadas, através de uma dieta rica em trigo em grãos. Como resultado, encontrou em 21 crianças uma melhora significativa dos sintomas da constipação crônica, com a quantidade total de fibra em 10g + idade/dia.

É importante salientarmos que além da introdução de fibra alimentar na alimentação da criança, é importante como medida terapêutica corrigir erros alimentares com relação a quantidade, qualidade e horário das refeições no dia⁽²³⁾.

Existem ainda muitas controvérsias em relação ao papel da fibra para o tratamento e a prevenção da constipação, pois muitas crianças, mesmo na vigência de uma ingestão satisfatória de fibras, permanecem com a sintomatologia específica dessa condição⁽⁴²⁾.

Atualmente alimentos funcionais dentre eles os probióticos e prebióticos tem sido identificados como úteis para a regularização da melhora do hábito intestinal de crianças⁽⁴³⁻⁴⁴⁾.

Alimento funcional é um ingrediente que, além de fornecer a nutrição básica, promove a saúde do indivíduo através de mecanismos não previstos pela alimentação convencional⁽⁴⁵⁾.

A portaria nº 398 de 30/04/99⁽⁴⁶⁾, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde no Brasil fornece a definição legal de alimento funcional: como "todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica." Dentre os alimentos funcionais, estão incluídos os probióticos e prebióticos.

1.1 Probióticos

Probióticos são microorganismos vivos, que administrados em quantidades adequadas conferem benefícios a saúde⁽⁴⁷⁾.

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana, inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos resultando em um aumento da resistência contra patógenos. Assim, a utilização

de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do organismo⁽⁴⁵⁾.

Os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas que mais se destacam são: controle da microbiota intestinal; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos; diminuição da população de patógenos através da produção de ácidos acético e láctico; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes; estimulação do sistema imune; alívio da constipação; aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas. Ainda em fase de comprovação, outros efeitos atribuídos a essas culturas são a diminuição do risco de câncer de cólon e de doença cardiovascular. São sugeridos, também, a diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol, efeitos anti-hipertensivos, redução da atividade ulcerativa de *Helicobacter pylori*, controle da colite induzida por rotavirus e por *Clostridium difficile*, prevenção de infecções urogenitais, além de efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade⁽⁴⁵⁾.

1.2 Prebióticos

Os prebióticos foram definidos em 1995 como componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente o crescimento de bactérias potencialmente desejáveis no intestino, principalmente no cólon^(43, 45, 48-49). Dentre as características de um prebiótico, ele deve ser capaz de: resistir a ação das enzimas salivares, pancreáticas e intestinais e ao ácido clorídrico, ele não deve sofrer hidrólise enzimática ou absorção no intestino delgado; deve atingir o cólon e ser metabolizado seletivamente por bactérias benéficas do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que tem como ação diminuir o número de bactérias do gênero patogênico, ou seja ter efeito bifidogênico, levando assim a uma alteração da microbiota bacteriana saudável, proporcionando efeitos benéficos à saúde⁽⁵⁰⁾.

Os oligossacarídeos são carboidratos encontrados naturalmente em muitos alimentos como frutas, vegetais, leite e mel. Nos últimos anos, o interesse e consumo desses carboidratos, têm crescido muito, particularmente no Japão e Europa. Em 1991, o governo japonês criou o termo FOSHU: *Food for Specified Health Use*, para os alimentos funcionais. Em 2003, mais de 300 alimentos foram relatados como FOSHU, sendo que 30% destes apresentavam oligossacarídeos em sua formulação⁽⁵¹⁾.

Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são a modulação de funções fisiológicas chaves, como a absorção de cálcio e, possivelmente, o metabolismo lipídico, a modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia gastrointestinal, e a redução do risco de câncer de cólon⁽⁵²⁾.

Salvini *et al.* (2004)⁽⁴³⁾, relata que os prebióticos podem ser utilizados juntamente na dieta usual para administrar a maioria das desordens gastrointestinais na infância como: cólicas, regurgitação e constipação intestinal.

Os prebióticos abrangem as frutanas, que incluem a inulina natural, inulina hidrolisada enzimaticamente ou oligofrutose e frutooligossacarídeos sintéticos (FOS) além dos galactoligossacarídeos (GOS)⁽⁵³⁾. A inulina está presente de forma natural em algumas plantas, raízes de alho, cebola e chicória. Atualmente é utilizada pela indústria alimentícia por suas propriedades nutricionais, pois esses carboidratos não digeríveis possuem ação bifidogênica⁽⁴⁹⁾.

Vários estudos têm demonstrado a eficácia da utilização dos prebióticos sobre a flora intestinal, além de outras funções fisiológicas como aumento da absorção de cálcio, redução do risco de câncer de cólon, estímulo do sistema imunológico do hospedeiro, redução dos níveis de bactérias patogênicas no intestino, assim como o alívio da constipação^(45, 49, 54-55).

Os carboidratos que participam da dieta usual tem papel fundamental e podem ser classificados com base nas suas propriedades fisiológicas como digeríveis e não digeríveis. FOS e GOS são classificados como não digeríveis.

Os GOS são oligossacarídeos presentes naturalmente no leite materno, que favorecem a multiplicação de bifidobactérias de bebês amamentados ao seio⁽⁵⁶⁾. O aleitamento materno proporciona microbiota intestinal constituída predominantemente por (90%) *Bifidobacterias* e *Lactobacillus*, com poucos coliformes e clostridium. Nos lactentes alimentados artificialmente essas bactérias correspondem a 40 a 60 % da microbiota, onde se encontram também bactérias do gênero *clostridium* e *staphilococcus*⁽⁵⁷⁻⁵⁸⁾. Uma vez instalada a microbiota intestinal, por volta dos 18 a 24 meses ela tende a ser estável durante toda a vida. Portanto a diferença na colonização das bactérias intestinais se dá pelas diferenças na composição do leite materno e artificial⁽⁵⁹⁾.

Além da presença natural do GOS no leite materno, esse prebiótico pode ser sintetizado pela indústria, produzido por reação enzimática e apresentam a propriedade prebiótica desejável⁽⁶⁰⁾.

Atualmente várias fórmulas infantis apresentam em sua composição inulina e oligofrutose, por serem carboidratos não digeríveis e quando adicionados à dieta, aumentam significativamente as populações de bifidobactérias colônicas no intestino promovendo benéficos ao hospedeiro.

A ação do prebiótico sobre a constipação tem início quando os oligossacarídeos da dieta passam pelo trato gastrointestinal sem sofrer ação enzimática. Esses carboidratos no cólon são fermentados por bactérias anaeróbicas que por sua vez levam a produção de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta como o acetato, butirato e propinato. Conseqüentemente há redução de pH no lúmen intestinal, estímulo da proliferação de células epiteliais do cólon, incremento da motilidade colônica, aumento da frequência das evacuações e aumento do volume das fezes^(52, 61).

A contagem de bactérias fecais, a porcentagem do total de bactérias e a produção de ácidos graxos de cadeia curta são geralmente medidas objetivas aceitas para se detectar o efeito prebiótico⁽⁵⁷⁾.

Estudos clínicos têm evidenciado que fórmulas infantis contendo prebióticos GOS e FOS promovem decréscimo da permeabilidade intestinal, redução de doenças gastrointestinais assim como das infecções respiratórias e dermatites atópicas⁽⁶²⁻⁶³⁾.

Um cuidado com a ingestão de quantidades excessivas deve ser tomado, pois, assim como nos demais tipos de fibra, podem resultar em flatulência, cólicas, e distensão abdominal devido ao aumento da produção de gases, sendo estes estados reversíveis com a interrupção da ingestão. Em alguns casos, os prebióticos apresentam o risco teórico de diarreia osmótica^(45, 64). O excesso de GOS pode ter esse efeito adverso sobre a ingestão, a dose que não induz diarreia osmótica foi estimada em aproximadamente 0,3 – 0,4 g/Kg de peso corporal ou cerca de 20g por dia⁽⁶⁵⁾.

Nóbrega, *et al.* (2004)⁽⁶⁶⁾, administraram a lactentes e pré escolares 2,9g de FOS ao dia por 21 dias, como resultado obtiveram aumento do número de colônias de *Lactobacillus Bifidus* nessa população. Piirainen, *et al.* (2007)⁽⁶⁷⁾ comparou a eficácia de um suco com *Lactobacillus Rhamnusus* (LGG) com GOS com o objetivo de analisar a microbiota intestinal em crianças de 7 a 10 anos. A dose diária de GOS foi de 2g. A ingestão de LGG combinado com GOS aumentou significativamente o número de bifidobactérias, demonstrando assim o efeito prebiótico do GOS.

Bongers, *et al.* (2007)⁽⁶⁸⁾ em um estudo randomizado, analisaram 35 crianças constipadas com idade de 3 a 20 semanas utilizando fórmula infantil contendo óleo vegetal modificado com adição de ácido palmítico e mistura de oligossacarídeo (90% GOS e 10% FOS) além da proteína do soro do leite. O efeito da fórmula foi positivo na melhora da consistência das fezes.

Moro *et al.* (2005a)⁽⁶⁹⁾, investigou em um estudo duplo cego randomizado a mistura de GOS e FOS na quantidade de 0,8g/l/dia acrescida em fórmula infantil para bebês, e utilizou maltodextrina como placebo, o objetivo foi verificar se a mistura promoveria o efeito bifidogênico similar ao do leite materno. Ao final de 28

dias o número de bifidobactérias foi significativamente maior no grupo suplementado com os oligossacarídeos do que o placebo.

Costalos *et al.* (2008)⁽⁷⁰⁾, após utilização de fórmula infantil contendo 0,4g/l de GOS e FOS, para bebês a termo, em estudo duplo cego randomizado, obteve como resultado boa tolerância da fórmula, assim como, freqüência das evacuações mais alta com o grupo recebendo fórmula com prebiótico, fezes mais macias, quando comparadas ao grupo controle e maior número de bifidobactérias no grupo da fórmula com prebiótico, comparado ao controle que apresentou número de clostridium mais elevado.

Fanaro, *et al.* (2005)⁽⁷¹⁾ em estudo duplo cego randomizado, utilizaram uma mistura de GOS e FOS em fórmula infantil com e sem ácido oligossacarídeo que é naturalmente encontrado no leite materno e pode ser desenvolvido por reação enzimática através da pectina. Os resultados demonstraram que não houve diferença na quantidade de bifidobactérias entre o grupo controle e também no grupo com o ácido oligossacarídeo. Em contrapartida a combinação de GOS e FOS proporcionou melhores resultados com relação ao número de bifidobactérias mais elevadas nas fezes, assim como a consistência das fezes dos bebês alimentados com GOS e FOS mostraram-se mais macias do que com o ácido isolado e do grupo controle. Com relação ao pH, o mesmo apresentou-se reduzido somente com a fórmula suplementadas com GOS e FOS.

Poucos ensaios clínicos tem evidenciado a utilização de prebiótico em crianças acima de 2 anos de idade com constipação. Considerando a alta prevalência e a cronicidade da constipação nessas crianças, alternativas terapêuticas são desejáveis para aumentar a eficácia do manejo e os níveis de adesão. Os GOS são naturais, de baixo custo e acrescentado na dieta habitual da criança constipada pode vir a promover melhora dos sintomas da constipação.

2. OBJETIVO

Avaliar a eficácia do prebiótico GOS, nos sintomas da constipação funcional em crianças e adolescentes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo:

Estudo do tipo ensaio clínico, duplo cego placebo controlado e “*cross over*”.

3.2 Sujeitos do estudo

No período de 08/06/2010 a 25/03/2012, os pacientes pediátricos atendidos por livre demanda, consecutivamente, em unidades básicas de saúde e que receberam diagnóstico de constipação foram convidados a participar desse ensaio clínico. 20 crianças com idade de 4 a 16 anos, $8,75 \pm 4,14$ anos (MÉDIA \pm DP) atendidas nas Unidades Básicas de Saúde Costa e Silva e São Quirino, no município de Campinas – SP, preencheram os seguintes critérios de inclusão e exclusão: Critérios de inclusão:

1. Diagnóstico de constipação definido pelo critério de Roma III, pela presença de pelo menos dois dos sintomas relatados abaixo^(3, 20).
 - Freqüência das evacuações menor ou igual a duas vezes por semana
 - Um episódio por semana de incontinência fecal
 - Retenção fecal ou postura de retenção
 - Dor ou dificuldade para evacuar fezes de consistência endurecida
 - Presença de grande massa fecal e
 - História de fezes volumosas que entopem o vaso sanitário.
2. Faixa etária entre 4 e 16 anos
3. Consentimento para participação da pesquisa, firmado por assinatura da mãe ou responsável do Termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1).

3.3 Critérios de exclusão

1. Pacientes portadores de doença sistêmica ou genética: doenças metabólicas, ou neurológicas, ou qualquer outra condição reconhecidamente associada à constipação intestinal.
2. Pacientes com histórico pregresso ou atual de intolerância a lactose.
3. Paciente em uso de medicações laxativas.
4. Pacientes que necessitassem utilizar antibiótico durante a pesquisa
5. Indivíduos que fizessem uso regular de probiótico.

3.4 Tamanho Amostral

Para a determinação do tamanho da amostra utilizou-se o programa (macro) de *software* SAS denominado *fpower*. Esse programa calcula o poder ou tamanho de amostra necessário para se obter um determinado poder, em experimentos fatoriais com ou sem medidas repetidas. Os valores necessários para o cálculo amostral foram retirados do estudo piloto com $n=10$, para a determinação do número mínimo de participantes necessários para que se determinasse estatisticamente uma diferença entre o placebo e o princípio ativo, com poder de 90%.

Como resultado, foi determinado que o tamanho da amostra para o estudo seria de 18 crianças.

3.5 Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica da Faculdade de Ciências Médica da UNICAMP, N° 366/2009, CAAE: 0280.0.146.000-09 (ANEXO 2). A natureza do estudo e os riscos envolvidos foram explicados pelo pesquisador as mães ou responsável e também aos pacientes.

3.6 Seleção de participantes

A médica, pediatra das UBS, pesquisadora colaboradora, realizou anamnese dos sintomas relacionados ao hábito intestinal, anamnese completa com antecedentes, diagnóstico nutricional e clínico dos pacientes elegíveis, selecionando aqueles habilitados para participar da pesquisa.

3.7 Quantidade de GOS fornecido

A mistura de galactooligossacarídeo (GOS) utilizada neste estudo foi produzida a partir da atividade de galactosiltransferases de *Scopulariopsis* sp ATCC 44206 em lactose⁽⁷²⁾. O produto final em forma de pó seco consiste em (p: p), Galacto 28% com um grau de polimerização entre 2-5, 50% de lactose 15% de glicose e 7% de galactose. Como placebo(P) foi utilizado maltodextrina. Os pacientes receberam 6ml de solução do GOS, sendo que o galactooligossacarídeo produzido apresenta comprovada ação bifidogênica ⁽⁷³⁻⁷⁴⁾.

3.8 Coleta de dados

A coleta de dados, assim como a entrega do material a ser utilizado: GOS e P foram realizadas no domicílio com visitas quinzenais para a coleta de dados pelo pesquisador responsável, nos dias zero (D0), após 15 dias (D15), e após 30 dias (D30) do início, seguidos de um período de *wash-out* de 15 dias e após esse período a sequência se repetia com a utilização do segundo produto, GOS ou P, num esquema *cross-over*, em relação ao período anterior e com visitas no mesmo esquema: D0, D15 e D30.

Os pais e pacientes eram questionados de acordo com a tabela de sintomas (ANEXO 3). O estudo não teve como objetivo avaliar hábitos alimentares, mas no final da coleta de dados todos os participantes receberam

orientação nutricional individualizada. A família e participantes também foram esclarecidos quanto ao diagnóstico e possíveis sintomas de desconforto abdominal como flatulência, dor abdominal e diarreia, assim como do objetivo e a duração estimada do estudo.

Os participantes foram incluídos no estudo sistematicamente, a partir da inclusão por sorteio do primeiro participante, os demais receberam alternadamente cada um dos produtos, até completarmos 20 participantes.

3.9 Utilização dos produtos

Os produtos utilizados foram fabricados e envazados no laboratório de Bioaromas da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, sob a responsabilidade da pesquisadora associada. Após a fabricação, o GOS foi submetido à análise microbiológica e das características físico químicas pelo Instituto de Tecnologia dos Alimentos – ITAL, o qual atestou sua segurança.

Foram fabricados a substância ativa, prebiótico GOS e o placebo maltodextrina, ambos sob a forma líquida mantendo as mesmas características organolépticas (cor, sabor, odor e textura). Os produtos foram envazados em frascos de vidro escuro com capacidade para 100 ml, e rotulados como A e B com data de fabricação e validade, de 4 meses.

A pesquisadora colaboradora e responsável pela fabricação dos produtos foi a única pessoa que rotulou os produtos como A e B e que conhecia qual codificação recebia o frasco contendo GOS, e essa blindagem foi mantida em sigilo até o término do estudo e da avaliação estatística.

O pesquisador que realizou a coleta de dados dos pacientes, não participou do procedimento de blindagem dos frascos e os reconhecia somente como “Frasco A” ou “Frasco B”. Os frascos foram fornecidos da mesma maneira aos pacientes que também não puderam identificar se estavam recebendo GOS ou P.

O estudo foi conduzido segundo um desenho que garantia 2 sequencias de uso de GOS e P. No primeiro mês o paciente utilizava substância GOS ou P, seguidos do período de *wash out* de 15 dias e no mês subsequente utilizavam GOS ou P, dependendo do que havia sido utilizado no primeiro mês (FIGURA 1).

Para avaliar de forma mais objetiva a gravidade e a evolução dos pacientes durante o tratamento, um sistema de pontuação foi elaborado especificamente para este estudo (ANEXO 3), considerando as seguintes características clínicas: frequência das evacuações, dor ou dificuldade para evacuar, presença de escape fecal (*soiling*), consistência das fezes, sintomas de desconforto, saciedade (apetite/ vontade de comer).

Os dados foram obtidos através da anamnese junto à criança ou responsável. O valor do escore clínico variou de 0 a 40, o valor 0 corresponderia ao hábito intestinal regular com frequência superior a 3 vezes por semana, sem dificuldades evacuatórias e 40 à presença de sinais característicos de constipação, na intensidade máxima.

3.10 Utilização do GOS, placebo e carvão ativado

A mãe e/ou responsável foram orientados a utilizar diariamente 6 ml do produto A ou B, (de acordo com a inclusão no estudo), e misturá-lo em suco, água ou leite. Todos receberam além dos frascos com o produto A ou B, copo dosador para o porcionamento da medida exata diária do produto (FIGURA 2). O produto deveria ser ingerido preferencialmente no mesmo horário durante 30 dias. A avaliação dos sintomas foi realizada pelo pesquisador no início da pesquisa D0, e a cada 15 dias, em mais duas oportunidades D15 e D30. Após 30 dias de utilização do produto, houve um período de *washout* de 15 dias, durante o qual não foi utilizado nenhum produto. No segundo mês repetiu-se a sequência citada mas com o produto trocado, de maneira *crossing-over*.

Estudo do tempo de Trânsito oroanal com ingestão de carvão ativado foi realizado durante o ensaio. A dose do carvão ativado foi de 100 mg. O carvão ativado foi utilizado na forma diluída em suco de preferência escuro (suco de uva em pó para diluição) o qual foi fornecido pelo pesquisador ou com a opção de ser administrado em copo de plástico escuro, para não haver rejeição pela criança, devido a coloração negra. O mesmo deveria ser tomado no D0 e D30 de cada período, e com a orientação de aguardar a coloração escura das fezes, marcando o tempo desde a tomada até a evacuação em horas ou dias.

As visitas domiciliares foram realizadas quinzenalmente para a avaliação da evolução clínica, adesão a terapêutica (que foi avaliada pelo volume da suspensão utilizada, de acordo com a quantidade restante no frasco) e nova aplicação da tabela de pontuação dos sintomas.

A fim de facilitar o reconhecimento da consistência das fezes, no preenchimento dos escores da avaliação, foi utilizada uma figura ilustrativa (FIGURA 3)

A pontuação foi obtida a partir dos seguintes critérios, com dados obtido da anamnese junto à criança ou responsável:

1. Freqüência das evacuações:

- Até 3 vezes por semana: 1 ponto
- 1 a 2 vezes por semana: 2 pontos
- Menos que 1 vez por semana: 3 pontos.

2. Dor ou dificuldade para evacuar :

- Sem qualquer dificuldade: 1 ponto
- Dor e/ou dificuldade episódica: 2 pontos
- Dor e/ou dificuldade freqüente: 3 pontos.

3. Presença de escape fecal (Soiling):

- Ausente: pontuação 0
- Presente: 2 pontos

4. Como é a consistência das fezes

- Não evacua espontaneamente: 40 pontos
- Pedacos duros separados: 30 pontos
- Banana, com rachos profundo: 25 pontos
- Banana, com rachos superficiais: 20 pontos
- Banana macia: 0
- Pedacos macios separados: pontuação: 0
- Pedacos fofos com borda imperfeitas: pontuação: 0
- Diarréico, sem pedacos sólidos: pontuação: 0

5. Como são os sintomas de desconforto?

- Sem gases ou dor: pontuação 0
- Pequenas cólicas: 1 ponto
- Gases em pequena quantidade: 1 ponto
- Gases em grande quantidade: 2 pontos
- Dor abdominal: 2 pontos.

6. Saciedade (Apetite/Vontade de Comer)

- Todos os dias: 3 pontos
- Duas vezes por semana: 2 pontos
- Não refere: 1 ponto

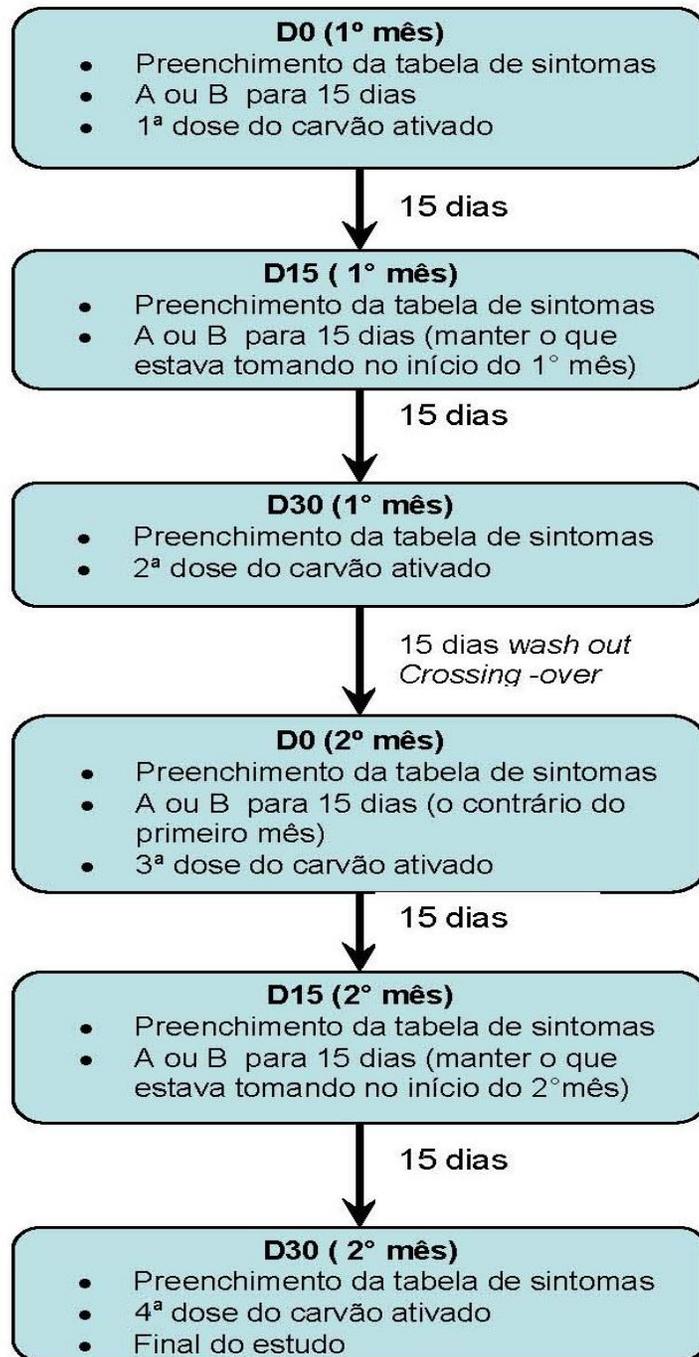


Figura 1 - Representação esquemática do estudo, com visitas quinzenais

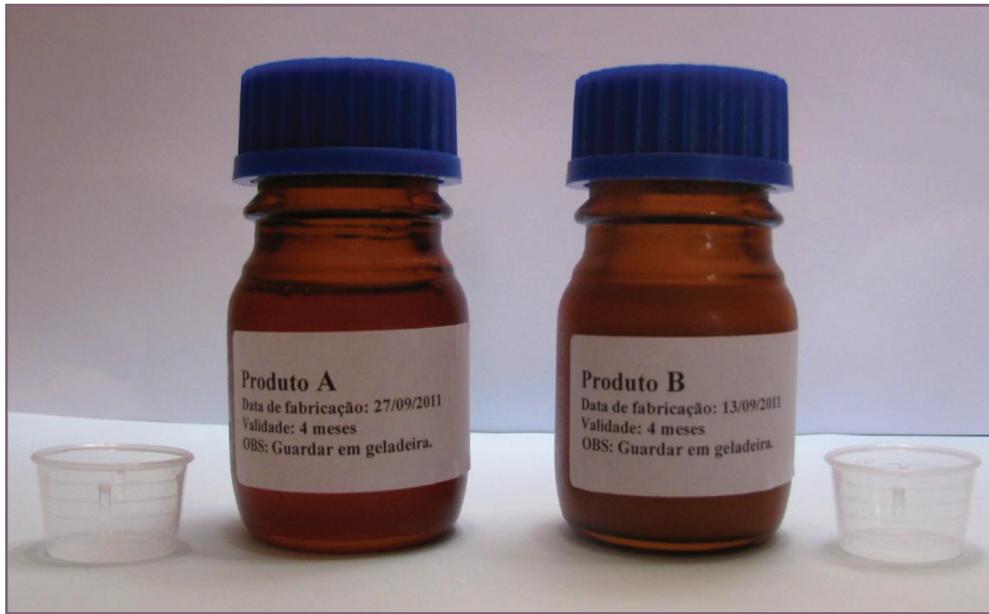


Figura 2 - Representação fotográfica dos produtos utilizados. Blindagem: FRASCO A / FRASCO B



Figura 3 - Escala fotográfica utilizada para identificação da consistência das fezes RUBIN & DALE. BMJ.2006;18:333(7577):1051-5

4. RESULTADOS

Os dados foram coletados de 08/06/2010 à 25/03/2012; 25 crianças atendidas nas UBS Costa e Silva e São Quirino, no município de Campinas, foram consideradas elegíveis para o estudo. Cinco pacientes foram excluídos após uma semana de participação, em decorrência de problemas relacionados a seguir: duas crianças por referirem não adesão à ingestão da solução, por esquecimento de administrar o produto. Uma criança cujo pai não permitiu a sua continuidade no estudo, uma adolescente, por estar tomando hidróxido de magnésio concomitantemente e só ter relatado essa informação após uma semana, e uma última que descontinuou o tratamento por motivo de viagem.

O estudo incluiu 12 crianças do sexo feminino e 8 crianças do sexo masculino, com idade de $8,75 \pm 4,14$ anos (média \pm DP), que foram divididos em dois grupos. Onze crianças utilizaram a sequência GOS seguido de Placebo (GOS \rightarrow P) e nove crianças a sequência Placebo seguido de GOS (P \rightarrow GOS). A ordem de uso dos produtos no primeiro e no segundo mês GOS \rightarrow P ou P \rightarrow GOS, para a primeira criança do estudo foi definida por sorteio, e, a partir de então, o estabelecimento da ordem para os demais indivíduos incluídos no estudo obedeceu a uma alocação sistemática, se o primeiro indivíduo iniciou o primeiro mês com placebo, o segundo indivíduo iniciou com princípio ativo, o terceiro com placebo e, assim, alternadamente até o 20º indivíduo incluído. Após a quebra da blindagem verificamos que, por sorteio, a primeira criança iniciou com a sequência G \rightarrow P, e a segunda a entrar no estudo, sequência alternativa: P \rightarrow G e, assim por diante, até alcançar o número de participantes necessário segundo cálculo de amostragem de 20 crianças.

- **ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARAÇÃO DO SINTOMA: FREQUÊNCIA DAS EVACUAÇÕES.**

Os valores dos escores obtidos para os sintomas da constipação intestinal estão apresentados no gráfico 1.

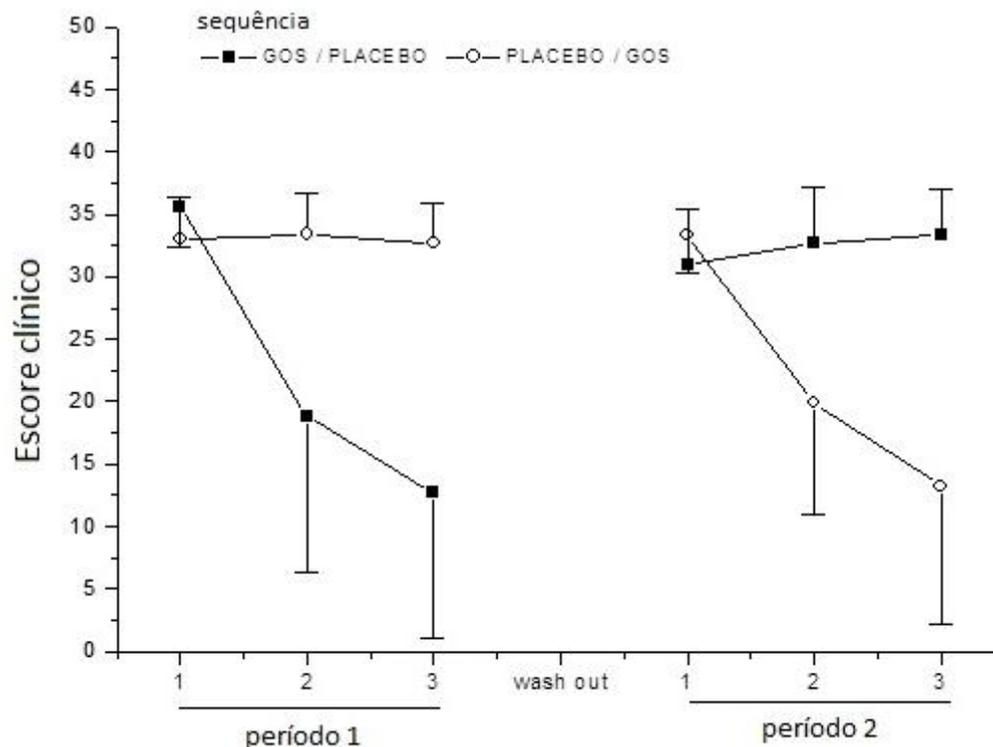


Gráfico 1 - Valor médio e desvio padrão do escore clínico, nos tempos D0, D15 e D30, de acordo com a sequência G→P e P→G de tratamento empregada em cada um dos períodos (1º e 2º mês).

A análise da pontuação de gravidade dos sintomas da constipação intestinal, frequência das evacuações e consistência das fezes, foi analisada separadamente levando em consideração o efeito de cada produto sobre eles e foram avaliadas também as interações resultantes.

Os sintomas de desconforto foram tão raramente relatados que não foi possível analisar.

Para avaliar a alocação sistemática da criança no estudo, com relação a sequencia G→P ou P→G foi utilizado ANOVA para medidas repetidas com transformação por posto, resultando em um valor de $p= 0,9427$, demonstrando não haver diferença significativa dependente da sequência de uso de GOS ou do P, ou seja, não houve influência da sequencia nos resultados.

O efeito do produto GOS ou P nos sintomas de constipação foi estatisticamente diferente, $p < 0,0001$. O efeito do período administrado foi independente do período de uso, 1^o ou 2^o mês, $p = 0,0693$. Análise de presença de efeito *carry over* identificou valor de $p = 0,9251$, significando que o período de *wash out* foi eficaz para não deixar resíduo, ou seja, o produto utilizado no primeiro mês, não deixou efeito residual que provocasse interferência no segundo mês.

A análise do efeito do tempo nos sintomas de constipação foi realizada considerando-se D0, D15 e D30 de cada período, obtendo-se $p < 0,0001$, demonstrando haver interação significativa entre tempo e produto.

Ao fixarmos o tempo D0, D15 e D30 e compararmos com o produto, encontramos que em D0 o valor de p foi de 0,0022, no D15, $p < 0,0001$ e no D30, $p < 0,0001$, ou seja nos três tempos de análise o GOS apresentou efeito com diferença significativa em relação ao P nos sintomas da constipação intestinal: o GOS modificou os escores ao longo do tempo, no D15 e D30. Observou-se também que o valor do escore no *baseline* do estudo foi maior, significando maior gravidade clínica, no grupo de crianças que iniciou a sequência G→P ($p = 0,0022$ em D0) para os sintomas da constipação intestinal, isso foi em decorrência de que no D15 e D30, os valores de $p < 0,0001$ e $p < 0,0001$ indicam respectivamente a melhora nos sintomas com a utilização de GOS.

Com relação à análise do produto e tempo, houve diferença significativa com a utilização de GOS ($p < 0,0001$), e não houve diferença estatisticamente significativa com o uso de P, com ($p = 0,0646$).

- **ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARAÇÃO DO SINTOMA: FREQUÊNCIA DAS EVACUAÇÕES.**

Os escores relativos ao sintoma frequência das evacuações foram analisados em D0, D15 e D30 de estudo. Observou-se uma semelhança entre os valores obtidos em D15 e D30 durante a coleta de dados, e o teste estatístico mostrou não haver diferença significativa entre esses tempos D15 e D30 ($p > 0,005$

– *data no show*), sendo assim, os mesmos foram analisados somente em D0 e D15.

Os valores dos escores obtidos para os sintomas da frequência das evacuações estão apresentados no gráfico 2.

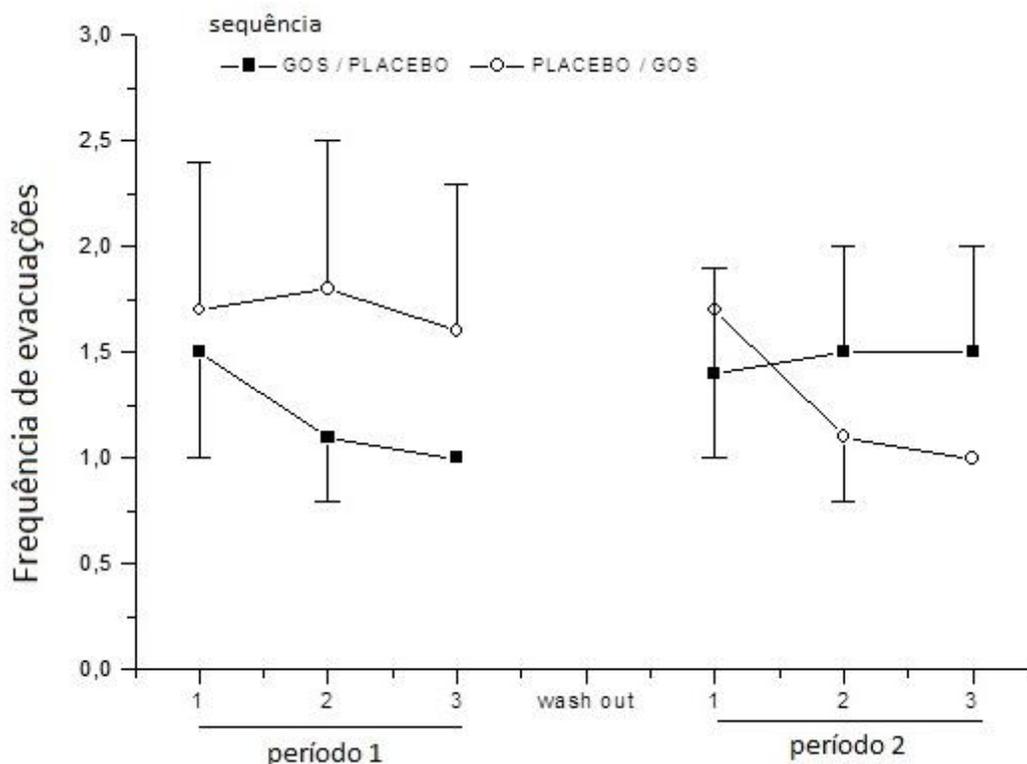


Gráfico 2 - Valor médio e desvio padrão da frequência de evacuações de acordo com a sequência de tratamento empregada nos tempos D0, D15 e D30 dias em cada um dos períodos.

A análise demonstrou não haver efeito da sequência ($p = 0.4507$) assim como efeito *carry-over* ($p=0.3115$), na análise do sintoma frequência das evacuações. As interações entre tempo e sequência, produto e período também foram estudadas e somente a interação tempo e produto apresentou efeito significativo ($p=0.0009$). Quanto ao efeito do produto GOS nos tempos avaliados, em D0 não houve diferença significativa dos escores para o sintoma estudado com valores de $p=0,1964$, a diferença ocorreu somente em D15, $p=0,0009$.

Na análise do produto e comparando com o tempo, encontramos GOS nos tempos D0 e D15 com $p=0,0014$; P com valor de $p=0,1721$ demonstrando a melhora nos sintomas da frequência das evacuações ao longo do tempo de uso do GOS. Quanto ao produto P, na análise de D0 a D15, o mesmo não promoveu melhora.

- **ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARAÇÃO DO SINTOMA:
CONSISTÊNCIA DAS FEZES.**

A análise do sintoma consistência das fezes foi realizada nos três tempos do estudo D0, D15 e D30.

Os valores dos escores obtidos para os sintomas da consistência das fezes estão apresentados no gráfico 2.

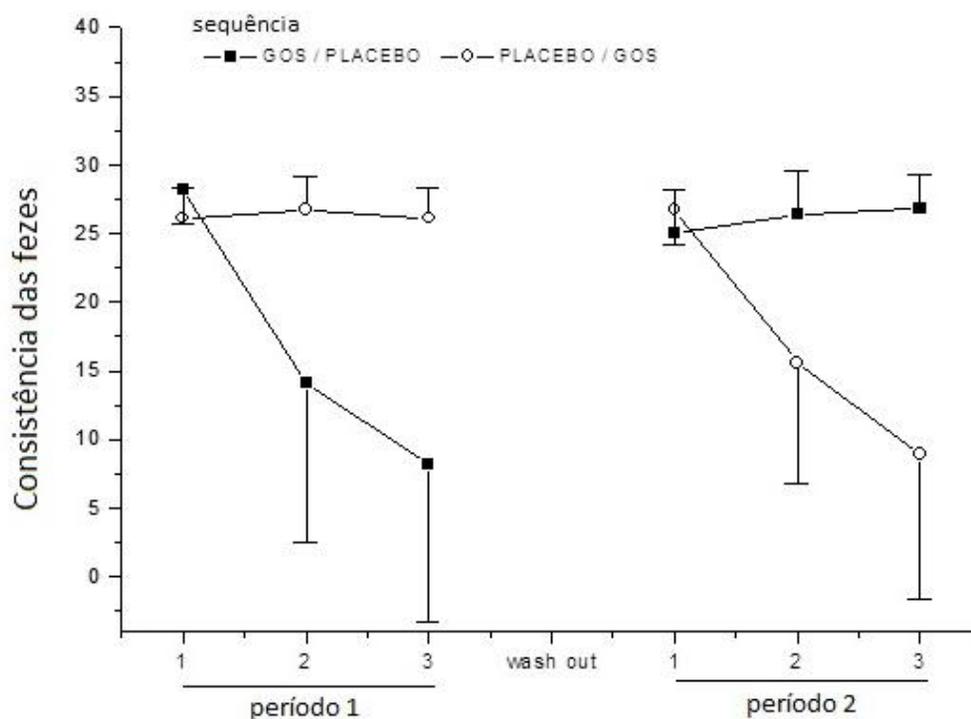


Gráfico 3 - Valor médio e desvio padrão da consistência das fezes de acordo com a sequência de tratamento empregada nos tempos D0, D15 e D30 em cada um dos períodos (1º e 2º mês).

Não foi observado efeito significativo da sequencia ($p = 0.5740$), bem como do *carry-over* ($p=0.4582$). As interações entre tempo e sequencia período e produto também foram estudadas observou-se efeito significativo das interações entre tempo e produto, e produto e tempo. Analisando-se tempo e produto encontramos que, no início do estudo no D0 para GOS e P houve diferença significativa do escore para a consistência das fezes e foi observado que o grupo que iniciou o estudo com GOS apresentava um escore superior (sintoma de constipação mais grave) do que o grupo que iniciou em P. Na análise de D15 $p < 0,0001$ e D30 $p < 0,0001$, os resultados significativos foram referentes ao tempo de utilização de GOS. Já para produto P comparando-se com os tempos, encontramos $p = 0,0863$, e GOS com $p < 0,0001$ ao longo do tempo de utilização em D0 e D15; D15 e D30 e D0 e D30, demonstrando a melhora da consistência das fezes ao longo do tempo de utilização de GOS, comparado ao produto P. Essa análise foi realizada nos dois períodos (1 e 2º mês) com os dois produtos, não houve necessidade de separar os períodos.

Os valores dos escores do sintoma da constipação, frequência das evacuações e consistência das fezes estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de p para ANOVA no estudo duplo cego, placebo, *cross-over*, controlado, incluindo 20 crianças com constipação funcional, definidos pelos critérios de ROMA III. Crianças e adolescentes randomizados recebendo Maltodextrina como placebo ou prebiótico GOS.

| ANOVA | Valores de p | | |
|---|-------------------|---------------------------|------------------------|
| | ESCORE TOTA*** | FREQUENCIA DAS EVACUAÇÕES | CONSISTÊNCIA DAS FEZES |
| Efeito do estudo de intervenção nos valores dos escores | | | |
| ALOCAÇÃO DOS PACIENTES NO USO DOS PRODUTOS | 0.9427 | 0.4507 | 0.5740 |
| EFEITO DO CARRY OVER | 0.9251 | 0.3115 | 0.4582 |
| SEQUENCIA DA INGESTÃO DE PRODUTOS | 0.7808 | 0.9513 | 0.8228 |
| PRODUTO GOS OU PLACEBO | < .0001 | 0.0009 | <0.0001 |
| PERIODO | 0.1210 | 0.8445 | 0,0694 |
| USO DO GOS | <0.0001 | 0.0014 | < 0,0001 |
| USODO PLACEBO | 0.0646* | 0.1721 | 0.0863 |
| TEMPO DE TRANSITO OROANAL COM USO DE GOS | <0.0001 | NE | NE |
| TEMPO DE TRANSITO OROANAL COM USO PLACEBO | 0.0155** | NE | NE |

* maiores valores em D30, ** maiores valores em D30, NE = não avaliado *** total do escore incluindo desconforto/dor durante passagem das fezes, frequência e consistência das fezes.

• ANÁLISE DA UTILIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO

Para a sequência G→P, oito crianças utilizaram carvão ativado, e para a sequência P→G, sete crianças.

Na análise do tempo e produto, encontramos para GOS no D0 e para D30 $p < 0,0001$, com diferença significativa, pois o produto GOS apresentou valor inferior em dias para evacuações escuras, demonstrando a melhora do trânsito oroanal. Para P encontramos $p = 0,0155^*$ (TABELA 2); com D30 > que D0 em

número de dias para evacuações escuras, demonstrando trânsito oroanal mais lento (TABELA 2)

Tabela 2 - Valores dos escores das médias ajustadas do tempo de trânsito oroanal, avaliado pela ingestão do carvão ativado, e medido em dias das 20 crianças, comparando GOS e placebo,

| Produto | D0 | D30 |
|----------------|-----------|------------|
| GOS | 3.70 | 1.99 |
| Placebo | 3.49 | 3.94* |

5. DISCUSSÃO

A evacuação é um ato fisiológico que deve ocorrer regularmente e sem dor ou desconforto⁽⁷⁵⁻⁷⁶⁾. O movimento evacuatório finaliza o trânsito gastrointestinal dos alimentos ingeridos. Uma variedade de fatores determina o hábito intestinal dos indivíduos, entre eles, os de maior repercussão são representados pelas características motoras individuais do trato gastrointestinal, a composição da dieta, a atividade física, a ingestão de líquidos, o ritmo alimentar e o estilo de vida. A participação desses fatores é determinante do hábito intestinal, porém, outros fatores ainda não totalmente identificados podem resultar em constipação. Apenas 5% dos casos estão associados a causas anatômicas, os demais são denominados de constipação de etiologia funcional⁽⁷⁷⁾.

Os mecanismos que geram os sintomas da constipação funcional em crianças não estão claramente identificados. A grande maioria dos casos é dita constipação de etiologia funcional e nesses pacientes considera-se que a etiologia decorre de uma disfunção do reto e do assoalho pélvico determinada por incoordenação no controle neural da evacuação, representado pelo eixo cérebro-intestinal⁽⁷⁸⁾. A função sensitiva e motora do reto que compreendem a percepção e a motilidade, assim como componentes biomecânicos como a complacência e capacidade volumétrica, são reconhecidos atualmente como estreitamente ligados aos mecanismos patogênicos da constipação funcional. Prejuízo na sensibilidade retal, aumento da complacência e da capacidade retal, disfunção motora do reto (contratilidade fásica e tônus) e alterações na atividade reflexa retoanal são identificados em pacientes constipados e associados com desordens como a dissinergia do assoalho pélvico⁽⁷⁸⁾.

Além dos casos cuja patogênese associa-se à disfunção anorretal, evidências recentes indicam que nos casos clínicos mais resistentes à terapia habitual, os mecanismos fisiopatogênicos podem ser decorrentes de distúrbios na função motora do cólon, fenômeno denominado trânsito colônico lento. Características clínicas comuns a esses pacientes incluem, na maioria dos relatos retardo na primeira eliminação de mecônio, presença de escapes fecais e eliminação de fezes pastosas em movimentos evacuatórios espontâneos, mas

infrequentes, esses sintomas clínicos estão associados a trânsito colônico lento nos estudos cintilográficos ou com marcadores radiopacos. À manometria colônica, registra-se prejuízo na propagação anterógrada e pouca resposta a estímulos fisiológicos que desencadeiam as contrações⁽⁷⁹⁻⁸⁰⁾.

Nos pacientes pediátricos, há uma grande variabilidade de intensidade dos sintomas da constipação funcional. Algumas crianças apresentam um quadro de intensidade mais leve, caracterizado por esforço evacuatório de fezes ressecadas e, num contínuo, a gravidade dos sintomas varia havendo indivíduos em que as evacuações ocorrem com intervalos longos, superiores a alguns dias, escapes fecais e dilatação de reto no enema baritado. Em geral, nos primeiros dois anos de vida, os pacientes são sensíveis a manejo dietético, poucas crianças dessa faixa etária necessitam de laxativos. Em pacientes de mais idade, apresentando comportamento retentivo, há necessidade de proporcionar urgência evacuatória e evacuação confortável, ações que exigirão o uso de laxativos osmóticos em doses suficientemente altas para fazer frente à retenção fecal voluntária. Nos casos em que o paciente apresenta complicações como o megarreto e os escapes fecais, é necessário intervir por meio de enemas evacuatórios, altas doses de laxativos osmóticos e alguns meses serão necessários para que o paciente volte a apresentar evacuações espontâneas sem o uso dos agentes farmacológicos. Ainda existem casos chamados de refratários nos quais apenas enemas anterógrados aplicados por via cirúrgica consistirão num instrumento terapêutico capaz de superar possíveis distúrbios da motilidade colônica e promover a recuperação motora e sensitiva do mecanismo da evacuação⁽⁸¹⁻⁸³⁾.

Essa heterogeneidade clínica precisa ser considerada na inclusão de pacientes em ensaios clínicos conduzidos para avaliar a eficácia da terapêutica destinada à constipação funcional. Pacientes com escapes fecais e retenção fecal crônica habitualmente necessitam de uma conduta inicial mais agressiva com enemas para a remoção da impactação. Com base nessa premissa, decidiu-se pela inclusão no ensaio clínico de casos com apresentação clínica mais leve, homogêneos entre si e, ainda, sem indícios clínicos de constipação orgânica.

Casos leves de constipação em crianças são os que mais frequentemente buscam os serviços de atenção básica à saúde. Não foram incluídos pacientes com constipação complicada por megarreto e escapes fecais uma vez que, esses pacientes necessitam de terapia inicial que inclui remoção mecânica das fezes cronicamente retidas nos segmentos colônicos e manutenção dos movimentos evacuatórios regulares com doses máximas de laxativos orais.

Novas propostas terapêuticas vêm sendo utilizadas nos últimos anos para o manejo da constipação funcional, a utilização de probióticos e prebióticos, isoladamente ou adicionados a fórmulas lácteas, é a alternativa que mais tem sido estudada nos últimos anos⁽⁸⁴⁾. Os prebióticos apresentam ação na alteração na composição e metabolismo da flora intestinal, são mais baratos, apresentam maior facilidade de incorporação na dieta e associam-se a menor risco na utilização que os probióticos⁽⁸⁴⁾.

Os prebióticos apresentam-se sob a forma de oligossacarídeos que ocorrem naturalmente em alguns alimentos ou podem ser adicionados como suplementos alimentares em bebidas ou fórmulas infantis. Sua presença no sistema digestivo incrementa, de maneira seletiva, a proliferação de bactérias no cólon, principalmente da espécie *Bifidobactéria*⁽⁸⁵⁾. Como exemplos de prebióticos temos os frutooligossacarídeos (FOS), a inulina e os galactooligossacarídeos (GOS). Poucos trabalhos têm sido conduzidos na avaliação do uso de prebióticos na prevenção ou tratamento de doenças na faixa etária pediátrica. Sua eficácia tem sido demonstrada principalmente na prevenção da alergia⁽⁸⁵⁾. Suas aplicações dependem ainda de trabalhos randomizados que apoiem sua utilização⁽⁸⁵⁾.

Os FOS ocorrem naturalmente em vegetais e podem ser produzidos comercialmente a partir da sacarose ou por meio da hidrólise da raiz da chicória. GOS é um termo coletivo para um grupo de carboidratos compostos de oligo-galactose com lactose e glicose. São produzidos comercialmente a partir da lactose pela ação da β galactosidase. São encontrados naturalmente no leite humano^(65, 86). A composição da fração de GOS varia no comprimento da cadeia e

do tipo de ligação entre as unidades monoméricas. GOS compreendem geralmente uma cadeia de unidades de galactose que surgem através de reações de transgalactosilação consecutivos, com uma unidade de glicose terminal. O grau de polimerização de GOS pode variar muito marcadamente, variando de 2 a 8 unidades monoméricas⁽⁶⁵⁾. O efeito laxante do FOS e GOS é atribuído a sua ação como fibra solúvel. Os oligossacarídeos passam intactos pelo trato gastrointestinal sem sofrer digestão e no cólon, estimulam a fermentação bacteriana, processo que aumenta a massa bacteriana, determinando maior volume fecal, atenuando os sintomas da constipação. Outro efeito da fermentação bacteriana é a diminuição do pH do cólon, fenômeno que estimula o crescimento de Lactobacilos e Bifidobactérias, que apresentam ação procinética⁽⁸⁶⁾.

Para avaliar esses efeitos em crianças constipadas, foi conduzido um ensaio clínico duplo cego, controlado, considerado um requisito essencial para verificar o efeito de intervenções em distúrbios gastrointestinais funcionais⁽⁸⁷⁻⁸⁸⁾. O presente ensaio apresentou as características discutidas a seguir.

As crianças incluídas apresentavam homogeneidade do quadro clínico quanto à duração e gravidade da constipação intestinal funcional. Essa homogeneidade permitiu a sua avaliação como um grupo que responderia de forma semelhante à utilização do prebiótico, uma vez que os fatores etiológicos determinantes ou agravantes associados à constipação possivelmente são semelhantes entre os pacientes. O grupo de crianças apresentava constipação leve a moderada, sem complicações (megarreto ou escapes fecais) o que nos permitiu testar o GOS isoladamente, isto é, sem necessidade clínica de acrescentar laxativos ou enemas associados ao tratamento, enquanto participavam do ensaio, visto que não apresentavam dados indicativos de impactação fecal como escapes fecais, massas fecais abdominais palpáveis ou percebidas no toque retal. Em relação à idade para participação no estudo, o limite mínimo foi determinado em 4 anos, para que pudéssemos obter do paciente, com maior confiabilidade, informações acerca dos sintomas avaliados e excluíssemos,

até onde a história progressa e o quadro clínico permitissem, a possibilidade de constipação de causa orgânica.

Um dos principais problemas metodológicos que encontramos com ensaios clínicos é a falta de validação de medidas de resultados para o tratamento dos transtornos gastrointestinais funcionais.

A avaliação clínica nesse ensaio foi realizada atribuindo-se valores numéricos às queixas, com o objetivo quantificar a avaliação dos principais sintomas associados à constipação como frequência das fezes, dor ou dificuldade para evacuar, presença de escapes fecais, consistência das fezes, essa atribuição de valor quantitativo ao sintoma possibilitou uma análise estatística de maior poder.

Num ensaio clínico duplo cego randomizado, Moro e colaboradores (2003)⁽⁸⁸⁾ avaliaram o efeito de FOS em 56 crianças, média de idade de 32,5 meses, encontrando melhora significativa na consistência das fezes e aumento da frequência das evacuações durante o uso do FOS. Implicações relatadas pelos autores foram de que o tamanho da amostra foi pequeno, assim como a avaliação sobre a consistência das fezes mostrou-se subjetiva, apesar de ter sido realizada por pessoal treinado. O cálculo do tamanho amostral no presente estudo foi realizado com base nos primeiros 10 pacientes incluídos no ensaio clínico, com base nos resultados, o número final de participantes esteve dentro dos valores calculados. Quanto à avaliação da consistência das fezes, a utilização de uma escala fotográfica recomendada por Rubin (2006)⁽³⁾ teve como objetivo diminuir a subjetividade de avaliação (FIGURA 2).

A condução do ensaio por meio de um desenho *cross over* tem a vantagem de comparar grupos com pequeno tamanho de amostra. Nesse desenho, um período de *wash out* faz-se necessário para retomar a situação clínica presente no início do tratamento e evitar resíduos do ingrediente utilizado na primeira sequência. Segundo Van Zanten e colaboradores (1999)⁽⁸⁷⁾, em alguns ensaios clínicos conduzidos entre pacientes com distúrbios gastrointestinais funcionais,

observou-se uma contínua melhora dos sintomas com o uso de placebo, gerando assim uma resposta pré-concebida para um segundo período no *cross over*. A análise estatística, no presente estudo demonstrou ausência de efeito residual talvez por serem os sintomas mais fáceis de avaliar que o sintoma dor, geralmente avaliado nos ensaios com doenças funcionais, além disso, o grupo de crianças que iniciou o estudo com placebo no 1^o mês de intervenção não obteve melhora significativa na constipação funcional ao longo das primeiras semanas que pudesse resultar em indução psicológica de efeitos benéficos para o segundo período.

O modelo de trabalho duplo cego randomizado é considerado padrão ouro em ensaios clínicos conduzidos em doenças funcionais⁽⁸⁷⁾. Um limite do presente estudo foi não ter conduzido a inclusão dos pacientes de maneira aleatória para iniciar com placebo ou princípio ativo, essa decisão foi uma imposição de um trabalho que foi conduzido em campo, já que para garantir a adesão e o uso regular dos produtos, a coleta das informações clínicas e dispensação dos produtos foram realizadas no domicílio. Essa coleta de dados implicou em dificuldades operacionais e para alcançar de maneira mais rápida o N amostral, optou-se pela inclusão de maneira sistematicamente alternada, a partir de sorteio do primeiro paciente incluído no estudo. Dessa forma, garantiu-se um número semelhante de pacientes em cada um das duas sequências de intervenção GOS→placebo e placebo→GOS.

Na avaliação do efeito de prebióticos na constipação de lactentes, a duração do tratamento para a avaliação dos sintomas variou de 21 dias a 08 semanas⁽⁸⁹⁻⁹²⁾, com base nessas experiências pregressas e na objetividade de avaliação clínica dos sintomas, frequência evacuatória e consistência das fezes, entendeu-se como adequado o tempo de 4 semanas.

Em adultos, a adição de doses de 2,5 a 10 g/dia de FOS ou a dose de 12 g/dia de GOS resultou em aumento da contagem fecal de bifidobactérias em indivíduos saudáveis, de maneira eficaz e bem tolerada^(67-68, 93-96). A dose utilizada

no presente estudo foi escolhida com objetivo de proporcionar um equilíbrio adequado entre eficácia e tolerância, de acordo com os resultados de ensaios em indivíduos adultos, uma vez que os estudos disponíveis em crianças foram realizados no período de lactância e utilizaram fórmulas lácteas suplementadas^(92, 97-100).

Entre os poucos ensaios que avaliaram o efeito dos GOS ingerido isoladamente de outros pré ou probióticos em pacientes constipados, Teuri (1998)⁽⁶⁴⁾ analisou idosos constipados, administrando iogurte com adição de 9g GOS/dia, o que resultou em aumento significativo no número de evacuações/semana e diminuição da consistência das fezes.

A diminuição na consistência das fezes com a utilização de prebióticos em lactentes foi verificada por Bongers e colaboradores (2007)⁽¹⁰¹⁾, que avaliaram uma fórmula infantil com adição de prebiótico GOS e FOS em um estudo duplo cego randomizado *cross-over*.

Ribeiro e colaboradores (2012)⁽¹⁰²⁾ randomizaram 133 crianças saudáveis de 9 a 48 meses de idade utilizando fórmula de leite de vaca (controle) e a mesma fórmula suplementada de polidextrose e GOS por 108 dias, 62 crianças que receberam fórmula com prebiótico apresentaram melhora significativa com relação à consistência das fezes, assim como aumento da frequência das evacuações.

O Comitê de Nutrição da Sociedade Européia de Pediatria, Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição revisou as evidências de publicações relacionadas com segurança e efeitos da administração de fórmulas suplementadas com probióticos e prebióticos. Quanto à frequência das evacuações, os estudos mostram que houve um significativo aumento no grupo suplementado com prebiótico, similar à frequência de evacuações de bebês alimentados com leite materno. Apesar desse achado, a posição do Comitê é de que os dados disponíveis são limitados para avaliar o potencial da melhora do aumento da frequência das evacuações com suplementação de prebióticos. Concluíram também que houve uma melhora na consistência das fezes,

comparada ao grupo controle nos trabalhos avaliados, mas o Comitê relata que os resultados não estão muito claros. A conclusão do Comitê é de que há evidências que a administração de fórmulas infantis suplementadas com prebióticos proporcionam: melhora da frequência e consistência das fezes, mas que mais estudos duplo cego randomizados devam ser feitos para se determinar a dose ideal de utilização assim como a duração e segurança da utilização⁽¹⁰³⁾. Contudo, nenhum ensaio foi conduzido com a administração isolada de GOS.

No processo de síntese do GOS resultará, de acordo com a enzima utilizada, diferentes quantidades de resíduo de lactose. Em indivíduos com deficiência de lactase secundária à hipolactasia ontogenética do adulto, a ingestão de GOS com tais resíduos pode levar a diarreia osmótica e à fermentação microbiana da lactose, resultando em flatulência e cólicas abdominais. Ito *et al.* (1990)⁽⁹⁶⁾ avaliando doses de 10g de GOS/dia não encontraram efeitos adversos à presença de lactose, pois no grupo avaliado não houve relato de diarreia, somente pouca flatulência transitória. Realmente, essa é um ponto que devemos levar em consideração com utilização do prebiótico GOS, diarreia, flatulência e cólicas não foram referidas pelos pacientes desse ensaio.

A ingestão de carboidratos de digestão lenta pode determinar sintomas gastrointestinais indesejáveis. Livesey (2001)⁽¹⁰⁴⁾ avaliou gêneros alimentícios que contem carboidratos de baixa digestibilidade, verificou que, em adultos, até 30g de oligossacarídeos/dose foram bem tolerados. Com relação aos prebióticos foram analisados trabalhos com misturas de GOS adicionado a FOS, GOS adicionado a acidoalogossacarídeo (AOS), oligofrutose adicionada a inulina, as misturas de GOS e FOS, GOS e AOS, e GOS e polidextrose. Com relação à mudança do pH das fezes ficou evidenciado que a suplementação de prebiótico levou a uma significativa redução do pH fecal em crianças. Contudo, nenhum ensaio foi conduzido com a administração isolada de GOS.

Os estudos que avaliaram o efeito prebiótico dos GOS determinaram o aumento do número de colônias de bifidobactérias nas fezes. Um limite do

presente estudo, uma vez que por motivos operacionais e de ordem técnica, essa análise comprobatória do efeito prebiótico do GOS não pode ser realizada. Contudo, informações provenientes de estudos em adultos permitem inferir a possibilidade de que a dose e tempo utilizados no presente ensaio determinou efeito bifidogênico. Bouhnik *et al.* (1997)⁽¹⁰⁵⁾, avaliou a tolerância do GOS e os efeitos da sua utilização prolongada na atividade das bifidobactérias em oito voluntários adultos saudáveis que receberam 10g GOS/dia durante 21 dias. Os efeitos objetivos identificados foram diminuição do pH fecal, aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta; as maiores mudanças ocorreram entre 2 e 7 dias de utilização, foi constatado elevação do número de bifidobactérias nas fezes. Com a finalidade de avaliar a mudança da flora intestinal em adultos, Ito *et al.* (1990)⁽⁹⁶⁾, realizaram um ensaio clínico duplo cego em 12 adultos saudáveis sem história de constipação. O prebiótico Oligomate 50, contendo 52% de GOS foi ingerido por 7 dias. As doses constavam de 0 (placebo); 2,5; 5 ou 10 g de GOS/dia. A dose máxima foi estabelecida em 10g pois tentativas anteriores com 15g causaram plenitude gástrica. Houve aumento significativo do número de bifidobactérias e lactobacilos nas fezes, durante todo o período, com as diferentes doses de GOS. A quantidade de 10g demonstrou um aumento de aproximadamente duas vezes o número médio de bifidobactérias por grama de fezes em comparação com o grupo controle, esse aumento ocorreu linearmente com o aumento da dose.

O incremento na população de bifidobacterias geradas pela ingestão dos GOS^(90, 105) podem ter efeito terapêutico na constipação por meio de ação direta sobre a motilidade colônica. Vários fatos comprovaram essa ação procinética das bifidobactérias. Animais “*germ free*” apresentam anormalidades nas características morfológicas e funcionais do intestino, entre as alterações funcionais, ocorre prejuízo na contração da musculatura lisa e retardo no tempo de trânsito intestinal e entre as anormalidades morfológicas observaram-se alterações dos neurônios dos plexos mioentéricos⁽¹⁰⁶⁻¹⁰⁷⁾. A inoculação de *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium bifidum* reduz o período de duração do complexo motor migratório

e acelera o trânsito do intestino delgado e, de maneira inversa, algumas cepas de *Escherichia coli* apresentam um efeito de retarde motor, quando inoculadas em animais gnobióticos⁽¹⁰⁷⁾.

Referendando a ação procinética dos probióticos gerados pela ingestão dos GOS, alguns estudos demonstraram diferenças na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis comparada à de pacientes com constipação crônica, diferenças caracterizadas por aumento do número de *Clostridia sp* e enterobactérias, e diminuição de bifidobacterias e lactobacilos nos pacientes constipados. Essas diferenças tem uma influência no perfil metabólico do ambiente intestinal e particularmente no padrão de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ⁽¹⁰⁸⁻¹⁰⁹⁾. AGCCs representam o principal produto metabólico derivado da atividade fermentativa da microbiota intestinal, tem efeito direto na motilidade intestinal, acelerando o tempo de trânsito⁽¹⁰⁹⁻¹¹⁰⁾. Em estudos experimentais em tecido isolado de animais *guinea-pig*, bactérias probióticas (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) estimularam a contração de segmento de íleo e induziram o relaxamento do cólon proximal⁽¹¹¹⁾.

O fato mais contundente que permite afirmar a ação procinética dos probióticos provem de ensaios controlados que demonstraram que a administração de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DN-173010 acelera o tempo de trânsito colônico em indivíduos saudáveis e em constipados⁽¹¹²⁻¹¹³⁾.

Um fator que limita as conclusões do presente estudo consistiu na impossibilidade de confirmar a suposta alteração da microbiota intestinal por meio de avaliação microbiológica, molecular ou, ainda, pela dosagem de AGCC nas fezes dos indivíduos durante a utilização do GOS. A demonstração da diminuição do tempo de trânsito oroanal observada na diminuição significativa do tempo de trânsito oroanal do carvão ativado pode, contudo, demonstrar um efeito de aceleração da atividade motora gastrintestinal, compatível com a hipótese de ação prebiótica do GOS e os fatos levantados nas hipóteses referidas acima.

A utilização do prebiótico GOS, no presente estudo se mostrou efetiva na melhora clínica dos sintomas da constipação intestinal funcional dos pacientes e pode representar uma medida coadjuvante na terapêutica da constipação.

6. CONCLUSÃO

O presente ensaio clínico avaliou o efeito do prebiótico Galactoligossacarídeo (GOS) comparado a placebo no hábito intestinal de crianças com diagnóstico de constipação. O GOS foi significativamente superior ao placebo em aumentar a frequência das evacuações e diminuir a consistência das fezes. GOS foi bem tolerado e não foi associado a efeitos clínicos adversos durante a ingestão.

7. REFERÊNCIAS

1. Morais MB, Maffei HVL. Constipação intestinal. J pediatr (Rio J). 2000;76(Supl.2):S147-S56.
2. Afza NA, Tigheand MP, Tomson MA. Constipation in children. Journal of Pediatrics. 2011;37:38.
3. Rubin G, Dale A. Chronic constipation in children. BMJ. 2006;333(7577):1051-5.
4. Damon H, Dumas P, Mion F. Impacto f anal incontinence and chronic constipation on quality of life. Gastroenterology Clinc Biologt. 2004;28:16-20.
5. Stewart ML, Schroeder NM. Dietary treatments for childhood constipation: efficacy of dietary fiber and whole Nutr Rev. 2013;71(2):98-109.
6. Benninga MA. Comprometimento da qualidade de vida de crianças com distúrbios funcionais da defecação. Jornal de Pediatria. 2006;82(6):403-5.
7. Candy D, Paul S. Go with the flow: in childhood constipation (Abstract). J Fam Health Care. 2011;21(5):35-41.
8. Pijpers MAM, Tabbers MM, Benninga MA, Berger MY. Currently recommended treatments of childhood constipation are not evidence based a systematic review on the effect of laxative treatment and dietary measures. Arch Dis Child. 2009;94:117-31.
9. Rajindrajith S, Devanarayana NM. Constipation in children: Novel insight into epidemiology, pathophysiology and management. J Neurogastroenterol Motil. 2011;17(1):35-47.

10. Tabbers MM, Boluyt N, Berger MY, Benninga MA. Clinical practice: diagnosis and treatment of functional constipation. *Eur J Pediatr*. 2011a Aug;170(8):955-63.
11. Sociedade Paulista de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. *Boletim*. 1994(4).
12. Backer SS, Liptak GS, Colletti RB, Croffie JM, Di Lorenzo C, Ector W, et al. Constipation in infants and children: A medical position statement of the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *J Ped Gastroenterol Nutr*. 1999;29(5):612-26.
13. Loening-Baucke VA. Encorpese and soiling *Pediatr Clin North Am*. 1996;43:279-98.
14. Benninga MA, Candy DCA, Catto-Smith AG, Di Lorenzo C. The Paris Consensus on Childhood Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:273-5.
15. Maffei HVL, Morais MB. Defining constipation in childhood and adolescence: from Rome via Boston, to Paris and...? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005;41(4):485-6.
16. Hyams JS, Colletti R, Faure C. Functional gastrointestinal disorders: working group report of the first world Congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;35(suppl):S110-S7.
17. Baucke VL. Constipation early childhood: patient characteristics, treatment, and long term follow up. *Gut*. 1993;34:1400-4.
18. Morais MB, Tahan S. Constipação intestinal. *Pediatria Moderna*. 2009;XLV(3):79- 98.

19. Hyman PE, Milla PJ, Benninga MA, Davidson EP, Fleisher DF, Taminiau J. Childhood functional gastrointestinal disorders: Neonate/Toddler. *Gastroenterology*. 2006;130:1519-26.
20. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes E, Hyams JS, Staiano A, et al. Childhood functional gastrointestinal disorders: child/adolescent. *Gastroenterology*. 2006 Apr;130(5):1527-37.
21. Oliveira JN, Tahans S, Goshima S, Fagundes Neto U, Morais MB. Prevalência de constipação em adolescentes matriculados em escolas de São José dos Campos, SP, e em seus pais. *Arq Gastroenterol*. 2006;43(1):50-4.
22. Loening-Baucke V. Prevalence, symptoms and outcome of constipation in infants and toddlers. *J Pediatr*. 2005;146(3):359-63.
23. Bigelli RHM, Fernandes MM, Galvão FLC. Constipação intestinal na criança. *Medicina*. 2004 jan/jun;37:65-75.
24. Biggs WS, Dery WH. Evaluation and treatment of constipation in infants and children. *Am Fam Physician*. 2006;73(3):469-77.
25. Tabbers MM, Boluyt N, Berger MY, Benninga MA. Nonpharmacologic treatment for childhood constipation: Systematic Review. *Pediatrics*. 2011;128(4):753-61.
26. van Dijk M, Benninga MA, Grootenhuis MA, Nieuwenhuizen AM, Last BF. Chronic childhood constipation: a review of the literature and the introduction of a protocolized behavioral intervention program. *Patient Educ Couns*. 2007;67(1-2):63-77.
27. Spiller RC. Pharmacology of dietary fibre. *Pharmac Ther*. 1994;62(3):407-27.

28. Kranz S, Brauchla M, Slavin JL, Miller KB. What Do We Know about Dietary Fiber Intake in Children and Health? The Effects of Fiber Intake on Constipation, Obesity, and Diabetes in Children. American Society for Nutrition Adv Nutr. 2012;3:47–53.
29. Lee WT, Ip KS, Chan JS, Lui NW, Young BW. Increased prevalence of constipation in pre-school children is attributable to under-consumption of plant foods: a community-based study. J Paediatr Child Health. 2008;44:170–5.
30. Maffei HV, Vicentini AP. Prospective evaluation of dietary treatment in childhood constipation: high dietary fiber and wheat bran intake are associated with constipation amelioration. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011;52(1):55-9.
31. Dwyers JT. Dietary fiber for children . How Much? Pediatrics. 1995;96(5 pt 2):1019-22.
32. Gomes RC, Maranhão HS, Pedrosa LFC, Morais MB. Consumo de fibra alimentar e de macronutrientes por crianças com constipação crônica funcional. Arq Gastroenterol. 2003;40(3):181-7.
33. Roma E, Adamidis D, Nikolara R, Constantopoulos A, Messaritakis J. Diet and chronic constipation in children: the role of fiber. J Pediatr gastroenterol Nutr. 1999;28(2):169-74.
34. Jing Yang, Hai-Peng Wang, Li Zhou, Chun-Fang Xu. Effect of dietary fiber on constipation: A meta analysis. World J Gastroenterol. 2012 Dec;18(48):7378-83.
35. Yang J, Wang Hai-Peng, Zhou L, Xu Chun-Fang Effect of dietary fiber on constipation: A meta analysis. World J Gastroenterol. 2012 Dec;18(48):7378-83.

36. Castillejo G, Bulló M, Anguera A, Escribano J, Salas-Salvadó J. A controlled, randomized, double-blind trial to evaluate the effect of a supplement of cocoa husk that is rich in dietary fiber on colonic transit in constipated pediatric patients. *Pediatrics*. 2006 Sep;118(3):e641-8.
37. Markland AD, Palsson O, Goode PS, Burgio KL, Busby-Whitehead J, Whitehead WE. Association of Low Dietary Intake of Fiber and Liquids With Constipation: Evidence From the National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Gastroenterol*. 2013 May;108:796-803.
38. Chimielewska A, Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Glucomannan is not effective for the treatment of functional constipation in children. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Clin Nutrition*. 2011;30:462-8.
39. Maffei HVL, Moreira FL, Kissimoto M, Chaves SM, Elfaró S, Aleixo AM. História Clínica e alimentar de crianças atendidas em ambulatório de gastroenterologia pediátrica com constipação intestinal crônica funcional e suas possíveis complicações. *J Pediatr (Rio J)*. 1994;70:280-6.
40. Gomes RC, Maranhão HS, Pedrosa LFC, Morais MB. Consumo de fibra alimentar e de macronutrientes por crianças com constipação crônica funcional. *Arq Gastroenterol*. 2003;40(3):181-7.
41. Martinez-Costa C, Ortuño PMJ, Ponce AB, Gomez NF, Marinez-Rodriguez L, Franch FI, et al. Estreñimiento funcional: estudio prospectivo y respuesta al tratamiento. *Pediatr (Barc)*. 2005;63(5):418-25.
42. Abi-Hanna A, Lake AM. Constipation and encopresis in childhood. *Pediatr Rev*. 1998;19(1):23-30.
43. Salvini F, Granieri L, Germellaro L, Giovannini M. Probiotics, Prebiotics, and child health: Where are you going? *J Int Med Res*. 2004;32(20):97-108.

44. Vandenplas Y, Veereman-Wauters G, De Greef E, Peeters S, Casteels A, Mahler T, et al. Probiotics and prebiotics in prevention and treatment of diseases in infants and children. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87(4):292-300.
45. Saad SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2006;42(1):1-16.
46. Gláucia MP. Legislação para Alimentos Funcionais. Campinas2009 [25 ago 2013]; Available from:
http://www.ital.sp.gov.br/ccqa/eventos/pos_evento/seminario-legislacao/legislacao-alimentos-funcionais-glaucia.pdf.
47. Sanders ME. Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev*. 2003;61(3):91-9.
48. Stef CA, Alves MAR, Ribeiro RL. Probióticos , prebióticos e Simbióticos . Artigo de Revisão2008. *Saúde & Ambiente em Revista*. 2008;3(1):16-33.
49. Moral AM, Moreno-Aliaga J, Hernández AM. Efecto de los prebióticos sobre El metabolismo lipídico. *Nutr Hosp*. 2003;18(4):181-8.
50. Roberfroid M. Prebiotics: The Concept revisited. *The Journal of Nutrition*. 2007;137(3):830S-7S.
51. Almeida MM, Pastore GM. Açúcares Funcionais galactoligossacarídeos. *Biotecnologia, Ciências e Desenvolvimento*. 2004;32:10-4.
52. Roberfroid MB. Functional food concepts and its application to prebiotics. *Dig Liver Dis*. 2002;42(S2):105-10.
53. Haully MCO, Fuchs RHB, Prudencio F, Helena S. Suplementação de iogurte de soja com fruoilgossacarídeos: Carcterísticas probióticas e aceitabilidade. *Rev Nutr*. 2005;18(5):613-22.

54. Cashman KV. Diet Nutrition and Bone Health. *The Journal of Nutrition*. 2007;137(11):2507S-12S.
55. Kaur IP, Chopra K, Saini A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci*. 2002;15(1):1-9.
56. Delzenne NM. Oligosaccharides: state of the art. *Proc Nutr Soc*. 2003;62(1):177-82.
57. Boehm G, Jelinek J, Knol J, M'Rabet L, Stahl B, Vos P, et al. Prebiotics and immune responses. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Jun;39(Suppl 3):S772-3.
58. Moreno Villares JM. Prebióticos en las fórmulas para lactantes podemos modificar La respuesta immune? *Na Pediatr*. 2008;68:286-94.
59. Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr*. 2002;88(1):S39-S49.
60. Sako T, Matsumoto K, Tanaka R. Recent progress on research and applications of non – digestible galacto – oligosaccharides. *International Dairy Journal*. 1999;9:69-80.
61. Carabin IG, Flamm WG. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2002;30:268-82.
62. Veereman G. Pediatric applications of inulin and oligofructose. *J Nutr*. 2007;137((11 Suppl)):2585S-9S.
63. Boehm G, Garssen J, Bruzzese E, Arslanoglu EMS. Prebiotic in infant formulas Immune Modulators during infancy. *Nutra Foods*. 2005;4:51-7.
64. Teuri U, Korpela R. Galacto-oligosaccharides relieve constipation in elderly people. *Ann Nutr Metabolism*. 1998;42:319-27.

65. Lamsal BP. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012;92(10):2020–8.
66. Nobrega JF, Trabulsi LR, Keller R, Fanzolin MR, Alves RCB, Santos MF, et al. Efeitos do prebiótico (oligossacarídeo) em leite em pó modificado na flora intestinal. Comparação com leite em pó modificado sem prebiótico em estudo duplo cego. *Rev Paul Pediatría*. 2004;22:205-11.
67. Sairanen U, Piirainen L, Nevala R, Korpela R. Yoghurt containing galactooligosaccharides, prunes and linseed reduces the severity of mild constipation in elderly subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2007;61:1423–8.
68. Bouhnik Y, Achour L, Paineau D, Riottot M, Attar A, Bornet F. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers *Nutrition Journal*. 2007;6:42.
69. Moro GE, Arslanoglu S. Reproducing the bifidogenic effect of human milk in formula – fed infants: why and how? *Acta Paediatr*. 2005a;94(449):14-7.
70. Costalos C, Kapiki A, Apostolou M, Papathoma E. The effect of a prebiotic supplemented formula on growth and stool microbiology of term infants. *Early Human Development*. 2008;84:45-9.
71. Fanaro S, Boehm G, Garssen J, Knol J, Mosca F, Stahl B, et al. Galactooligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: a review. *Acta Paediatr*. 2005;94(449):22-6.
72. Santos R dos, Simiqueli APR, Pastore GM. Produção de galactooligossacarídeo por *Scopulariopsis* SP. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2009 jul.-set;29(3):682-9.

73. Ohtsuoka K, Benno T, Endo K, Ueda H, Ozawa O, Uchida T, et al. Effects of 4 galactosyl-lactose intake on human fecal flora. *Bifidus*. 1989;2:143-9.
74. Mwenya B, Santos OB, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, Arai I, et al. Effects of including β -4 galacto- oligosaccharides , lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 2004;115:313-26.
75. Miranda JEG, Carvalho MA, Machado NC. Fisiologia da motilidade colônica e da evacuação, treinamento esfinteriano anal e distúrbios funcionais da evacuação. *Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba*. 2011;13(3):1-5.
76. Kyrklund K, Koivusalo A, Rintala RJ, Pakarinen MP. Evaluation of bowel function and fecal continence in 594 Finnish individuals aged 4 to 26 years. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(6):671-6.
77. Southwell BR, King SK, Hutson JM. Chronic constipation in children: organic disorders are a major cause. *J Paediatr Child Health*. 2005 Jan-Feb;41(1-2):1-15
78. Scott SM, van den Berg MM, Benninga MA. Rectal sensorimotor dysfunction in constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011 Feb;25(1):103-18.
79. Hutson JM, Chase JW, Clarke MC, King SK, Sutcliffe J, Gibb S, et al. Slow-transit constipation in children: our experience. *Pediatr Surg Int* 2009;25(5):403-6.
80. Cook BJ, Lim E, Cook D, Hughes J, Chow CW, Stanton MP, et al. Radionuclear transit to assess sites of delay in large bowel transit in children with chronic idiopathic constipation. *J Pediatr Surg*. 2005;40(3):478-83.
81. Mugie SM, Machado RS, Mousa HM, Punati JB, Hogan M, Benninga MA, et al. Ten-year experience using antegrade enemas in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;161(4):700-4.

82. Inan M, Aydiner CY, Tokuc B, Aksu B, Ayvaz S, Ayhan S, et al. Factors associated with childhood constipation. *J Paediatr Child Health*. 2007 Oct;43(10):700-6
83. Mugie SM, Di Lorenzo C, Benninga MA. Constipation in childhood. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:502–11.
84. Tabbers MM, Boluyt N, Berger MY, Benninga MA. Nonpharmacologic treatments for childhood constipation: systematic review. *Pediatrics*. 2011b;128(4):753-61.
85. Thomas DW, Frank R. Greer and Committee on Nutrition; Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *Pediatrics*. 2010;126(6):1217-31.
86. Niittynen L, Kajander K, Korpela R. Galacto-oligosaccharides and bowel function. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*. 2007;51(2):62-6.
87. Van Zanten SJOV, Talley NJ, Bytzer P, Klein KB, Whorwell PJ, Zinsmeister AR. Design of treatment trials for functional gastrointestinal disorders. *Gut*. 1999;45(Suppl II):II69–II77
88. Moro GE, Mosca F, Miniello V, Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, et al. Efeitos de uma nova mistura de prebióticos na flora fecal e fezes em bebês nascidos a termo. *Acta Paediatr Suppl*. 2003;91(441):77-9.
89. Moro G, Minoli I, Mosca M, Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, et al. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;34(3):291-5.
90. Boehm G, Lidestri M, Casetta P, Jelinek J, Negretti F, Stahl B, et al. Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002 May;86(3):F178-81.

91. Scholtens PA, Alliet P, Raes M, Alles MS, Kroes H, Boehm G, et al. Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides. *J Nutr.* 2008 Jun;138(6):1141-7.
92. Moro GE, Stahl B, Fanaro S, Jelinek J, Boehm G, Coppa GV. Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in faeces of formula-fed infants. *Acta Paediatrica.* 2005b;94(S449):27-30.
93. Hirayama M, Sumi N, Hidaka H. Purification and properties of fructo-oligosaccharides producing beta-fructofuranosidase from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Agric Biol Chem.* 1989;53:667-73.
94. Bouhnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, et al. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr.* 1999;129:113-6.
95. Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Paineau D, Bornet F. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr J.* 2006;5:8.
96. Ito M, Deguchi Y, Miyamoto A, Matsumoto K, Kikuchi H, Matsumoto K, et al. Effects of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microbial Ecol.* 1990;3:285-92.
97. Kapiki A, Costalos C, Oikonomidou C, Triantafyllidou A, Loukatou E, Pertrohilou V. The effect of a fructo-oligosaccharide supplemented formula on gut flora of a preterm infants. *Early Human Development.* 2007;83:335-9.
98. Knol J, Boehm G, Lidestri M, Negretti F, Jelinek J, Agosti M, et al. Increase of fecal bifidobacteria due to dietary oligosaccharides induces a

reduction of clinically relevant pathogen germs in the faeces of formula –fed preterm infants. *Acta Paediatrica*. 2005;94(S449):31-3.

99. Brunser O, Figueroa G, Gotteland M, Haschke-Becher E, Magliola C, Rochat F, et al. Effects of probiotic or prebiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2006;15(3):368-76.
100. Ben XM, Zhou XY, Zhao WH, Yu WL, Pan W, Zhang WL, et al. Supplementation of milk formula with galacto-oligosaccharides improves intestinal micro-flora and fermentation in term infants. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(6):927-31.
101. Bongers ME, de Lorijn F, Reitsma JB, Groeneweg M, Taminiau JA, Benninga MA. The clinical effect of a new infant formula in term infants with constipation: a double-blind, randomized cross-over trial. *Nutr J*. 2007;6:8.
102. Ribeiro TC, Costa-Ribeiro H Jr, Almeida PS, Pontes MV, Leite ME, Filadelfo LR, et al. Stool pattern changes in toddlers consuming a follow-on formula supplemented with polydextrose and galactooligosaccharides. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Feb;54(2):288-90.
103. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, et al. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52(2):238-50.
104. Livesey G. Tolerance of low-digestible carbohydrates: a general view. *British Journal of Nutrition*. 2001;85(Suppl. 1):S7-S16.
105. Bouhnik Y, Flourié B, D'Agay-Abensour L, Pochart P, Gramet G, Durand M. Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J Nutr*. 1997;127:444–8.

106. Abrams GD, Bishop JE. Effect of the normal microbial flora on gastrointestinal motility. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1967;126:301-4.
107. Husebye E, Hellström PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;289(G368-G380).
108. Salminen S, Salminen E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scand J Gastroenterol.* 1997;222(Suppl):45-8.
109. Zoppi G, Cinquetti M, Luciano A, Benini A, Muner A, Bertazzoni ME. The intestinal ecosystem in chronic functional constipation. *Acta Paediatr.* 1998;87:836-41.
110. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester JK, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:16767-72.
111. Massi M, Ioan P, Budriesi R, Chiarini A, Vitali B, Lammers KM, et al. Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal motility in guinea-pig isolated tissue. *World J Gastroenterol.* 2006 Oct;12(37):5987-94.
112. Marteau P, Cuillerier E, Meance S, Gerhardt MF, Myara A, Bouvier M, et al. *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(3):587-93.

113. Agrawal A, Houghton LA, Morris J, Reilly B, Guyonnet D, Goupil Feuillerat N, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(1):104-11.

ARTIGO

Effect of the prebiotic 4'galactooligosaccharides in children and adolescents with functional constipation

Celia Aparecida Valbon Beleli

Nutricionist – MSc

Elizete Aparecida Lomazi –

M.D. Ph.D Professor Ph.D Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Maria Ângela Góes Monteiro Antonio -

M.D Ph.D Professor Ph.D Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Gláucia Pastore -

Ph.D Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas

Rosangela Santos -

Ph.D Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas

SUMMARY

Some prebiotics are useful for improving symptoms related to constipation, but clinical trials including infants and older children are scarce. A double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial was conducted to evaluate the effect of galactooligosaccharide (GOS) on functional constipation in children and adolescents. Twenty children aged 4 to 16 years of age, who spontaneously sought medical care at a primary healthcare unit, received 1.7g GOS or placebo (Maltodextrin) treatment for 30 days, followed by a 15-day washout period and a 30-day use of an alternative product. A clinical score was calculated at baseline, at the 15th (D15) and 30th (D30) day of each period, to assess bowel movement frequency, straining/ pain during defecation and stool consistency. Oral anal transit time with activated charcoal was determined at baseline and D30 of each period. GOS relieved constipation symptoms when compared to placebo, $p < 0.0001$, decreased stool consistency, $p = 0.0014$ and increased bowel movement frequency, $p < 0.0001$. Values of oroanal transit time were significantly lower during GOS use, $p < 0.0001$. In children with functional constipation, GOS use was effective at improving clinical symptoms. It may represent an alternative method in the treatment of this condition.

1. Introduction

Functional constipation is a common condition in childhood. Its severity ranges from mild and short-term to severe and chronic. Therapeutic approach to functional constipation in children aims to contemplate the variation in clinical presentation and diverse determinant causative factors. Clinical response, however, is almost always unsatisfactory. Therapeutic proposals include behavioral therapy, food fiber supplementation, osmotic laxatives, stool lubricants, prokinetics, supplementary water ingestion, functional foods, transrectal enemas and surgical disimpaction. Osmotic laxatives and food fibers are the

most widely used therapeutic measures(1). Few evidence-based studies have been carried out to support these therapeutic recommendations(1-3).

Functional foods containing probiotics or prebiotics have been identified as useful for regulating bowel habits in children(4, 5). The majority of these studies were conducted in infants(6-12).

The current article was aimed at evaluating the effectiveness of the prebiotic 4'galactooligosaccharides (GOS) in the clinical treatment of functional constipation in children and adolescents.

2. Material and Methods

A double-blind, placebo-controlled, crossover study was carried out from 6/8/2010 to 3/25/2012. All patients aged 4 to 16 years old, consecutively managed in 2 primary healthcare services at the UNICAMP School of Medicine, who had spontaneously sought medical care, were included in the study. The Rome III criteria for constipation had to be fulfilled for study inclusion(13).

Patients with other comorbid conditions, those already under treatment for constipation, those with a previous or current clinical history of lactose intolerance, those using antibiotics or probiotics in the last 6 months were excluded from the study.

Sample size was determined by SAS software (SAS System for Windows, 2008)(14). Data was obtained from the first 10 participants included in the study, which had a power of 90%.

The study was constructed according to a crossover design with 2 sequences of evaluation and 2 treatment periods. After unblinding occurred, it was observed that eleven patients received the GOS/placebo sequence and nine patients received the Placebo/GOS sequence.

Each crossover period lasted 30 days with a 15-day washout period in between. In the first 30 days, the order of GOS or placebo ingestion defined by the first patient enrolled in the study was chosen by lot. For the remaining patients, the order of ingestion was alternated.

We used the prebiotic 4'galactooligosaccharides (GOS) produced from lactose through the action of β -galactosidase enzymes, produced by the microorganism *Scopulariopsis* sp(15, 16). A 6 ml-volume of prescribed Maltodextrin solution (placebo) and GOS was ingested in the morning. In the GOS mixture used, this volume corresponded to 1.7g of GOS. The family and participants were informed about the diagnosis and possible side-effects, related to abdominal distention, flatulence, abdominal cramping and diarrhea.

Data collection, medication dispensation and compliance measured by the return of medication vials used were performed during home visits every two weeks, at baseline (D0), after 15 days (D15) and after 30 days (D30), in each of the two study periods. A clinical score created for this study was applied in these visits (Table 1).

TABLE 1 - Numerical value attributed to symptoms associated with functional constipation, according to clinical severity. Higher values indicated higher severity of the condition. Minimum value = 0; maximum value = 36.

Table 1 – Clinical evaluation score

| BOWEL MOVEMENT FREQUENCY | Score |
|---|-------|
| Up to 3 times per week | 1 |
| 1-2 times per week | 2 |
| Less than once a week | 3 |
| PAIN OR DIFFICULTY IN PASSING STOOLS | |
| No difficulty | 1 |
| Pain and/or episodic difficulty | 2 |
| Pain and/or frequent difficulty | 3 |
| STOOL CONSISTENCY | |
| Hard, separate lumps | 30 |
| Banana with deep cracks | 25 |
| Banana with superficial cracks | 20 |
| Soft banana | 0 |
| Separate soft pieces | 0 |
| Fluffy pieces with ragged edges | 0 |
| Diarrheic, no solid pieces | 0 |

Tests with activated charcoal ingestion to evaluate oroanal transit time(17) were administered at D0 and D 30 in each period.

Stool consistency was defined by a photographic scale(18).

3.Statistical Analysis

A descriptive analysis of measures of position and dispersion was performed for numerical variables. To analyze symptom scores, analysis of variance for repeated measures with rank transformation was used. The level of significance adopted for statistical tests was 5%.

The study was approved by the Ethics Committee of the institution (UNICAMP), and all participants and/or parents responsible for the child signed a written informed consent term.

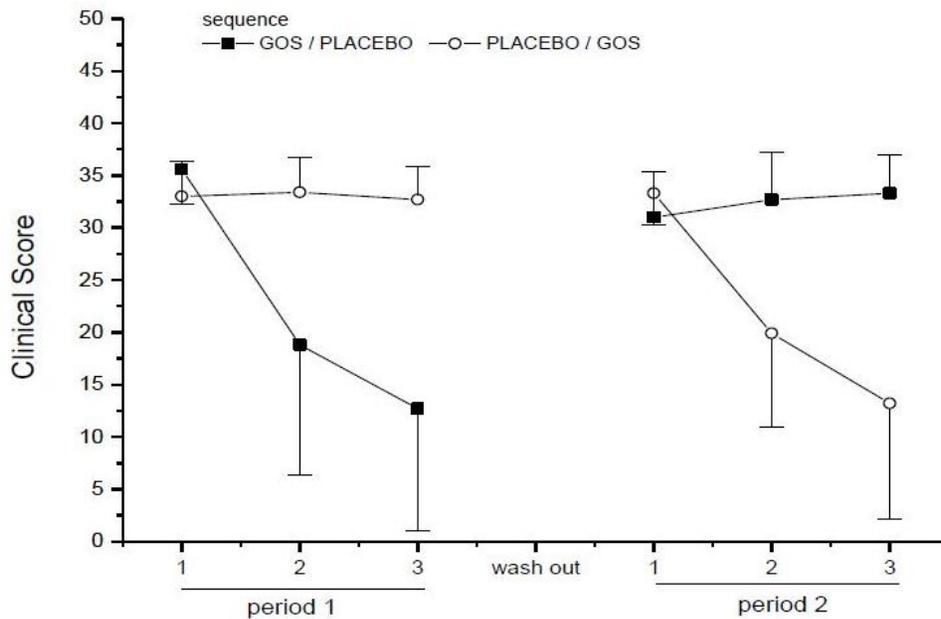
4. Results

Twenty (20) children and adolescents aged 4 to 16 years, 8.8 ± 4.1 years (mean \pm SD) were included in the study. Twelve were female and 8 were male. Twenty-three patients had been initially included, but 3 patients were lost to follow-up due to change of address. None of the patients refused treatment or had a low medication acceptance.

All patients reported fewer than 3 bowel movements per week and hard stool consistency. Clinical scores for constipation symptoms (pain or discomfort during defecation, and stool consistency and bowel movement frequency considered together) are shown in Figure 1.

FIGURE 1 – CLINICAL SCORES OF CONSTIPATION SYMPTOMS DURING CLINICAL TRIAL.

Figure 1 – Values of the mean and standard deviation of clinical score, at D0 (1), D15 (2) and D30 (3) time periods, according to periods of GOS or placebo use. Full squares correspond to values from patients receiving GOS in the first period and placebo in the second period (N = 11). Empty circles correspond to values from patients receiving placebo in the first period and GOS in the second period (N = 9). ANOVA, $p < 0.0001$.



In Figure 2, the mean and standard deviation values of scores related to bowel movement frequency are shown.

FIGURE 2 – CLINICAL SCORES OF BOWEL MOVEMENT FREQUENCY DURING CLINICAL TRIAL.

Figure 2 – Mean and standard deviation scores for bowel movement frequency, at D0 (1), D15 (2) and D30 (3) time periods, according to periods of GOS or placebo use. Full squares correspond to values from patients receiving GOS in the first period and placebo in the second period (N = 11). Empty circles correspond to values from patients receiving placebo in the first period and GOS in the second period (N = 9). ANOVA, p = 0.0014.

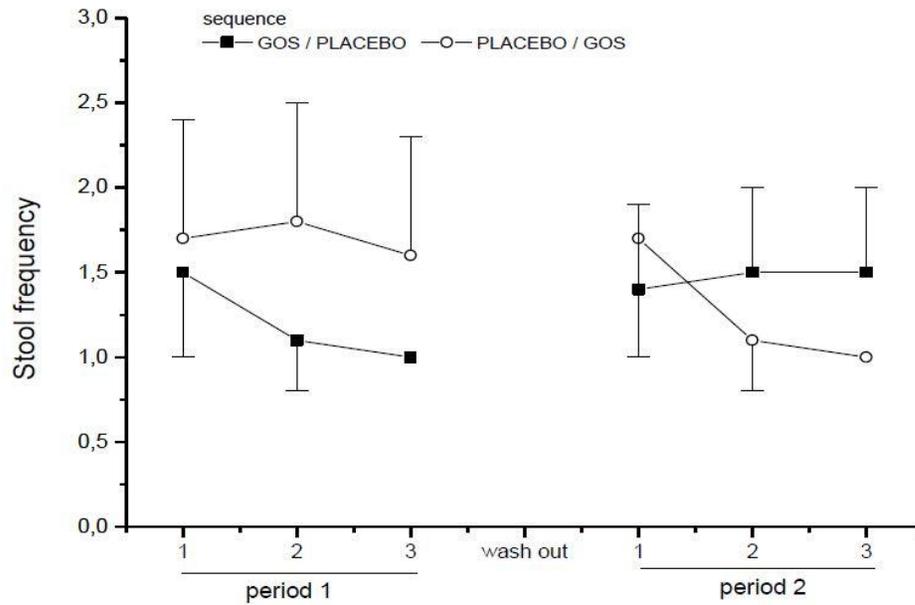


Figure 3 shows stool consistency scores.

FIGURE 3 – CLINICAL SCORES OF STOOL CONSISTENCY DURING CLINICAL TRIAL.

Figure 3 – Values of the mean and standard deviation scores of stool consistency, at D0 (1), D15 (2) and D30 (3) time periods, according to periods of GOS or placebo use. Full squares correspond to values from patients receiving GOS in the first period and placebo in the second period (N = 11). Empty circles correspond to values from patients receiving placebo in the first period and GOS in the second period (N = 9). ANOVA, $p < 0.0001$.

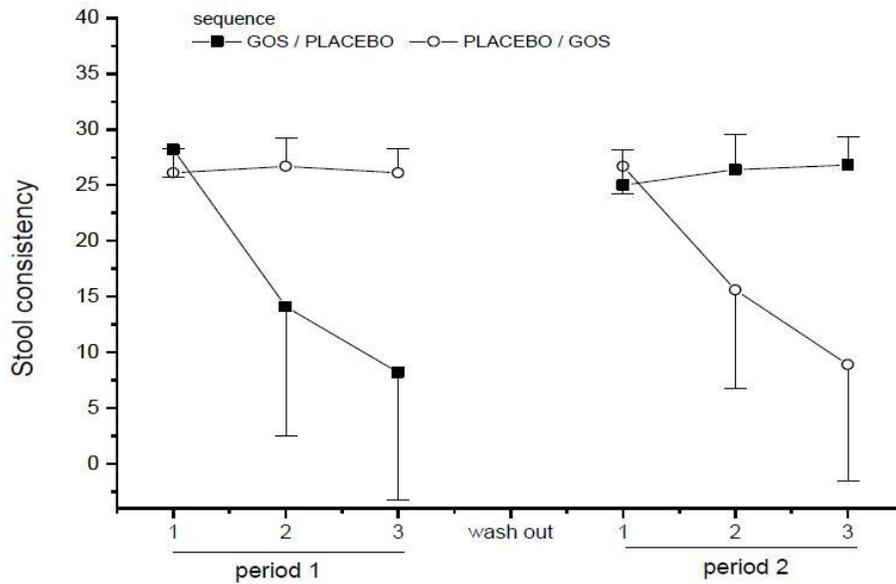


Table 2 shows p values in the analysis of variance for the effects of patient allocation on GOS or placebo sequences, and product effect on constipation symptoms.

TABLE 2 - p values in Analysis of Variance

Table 2 - P values from ANOVA in a double-blind, placebo-controlled crossover clinical trial conducted in a Primary Health Unit run by a Medical School staff, including 20 children with functional constipation defined by ROME III criteria, participating in the study during 75 days. Children were randomized to receive Maltodextrin placebo or prebiotic GOS in a crossover manner.

| ANOVA | p VALUES | | |
|--|----------------|--------------------------|-------------------|
| | TOTAL SCORE*** | BOWEL MOVEMENT FREQUENCY | STOOL CONSISTENCY |
| STUDY OF INTERVENTION EFFECTS ON SCORE VALUES | | | |
| PATIENT ALLOCATION IN SEQUENCES OF PRODUCT USE | 0.9427 | 0.4507 | 0.5740 |
| CARRY-OVER EFFECT | 0.9251 | 0.3115 | 0.4582 |
| SEQUENCE OF PRODUCT INGESTION | 0.7808 | 0.9513 | 0.8228 |
| PRODUCT: GOS or PLACEBO | < 0.0001 | 0.0009 | <0.0001 |
| PERIOD | 0.1210 | 0.8445 | 0,0694 |
| GOS USE | <0.0001 | 0.0014 | < 0,0001 |
| PLACEBO USE | 0.0646* | 0.1721 | 0.0863 |
| OROANAL TRANSIT TIME DURING GOS USE | <0.0001 | NE | NE |
| OROANAL TRANSIT TIME DURING PLACEBO USE | 0.0155** | NE | NE |

*higher values at D30, **higher values at D30, NE = not evaluated *** total score included discomfort/pain during passage of stool, bowel movement frequency and stool consistency

Table 3 shows study results of oroanal transit time at baseline and D30.

Table 3 - Adjusted mean oroanal transit time scores, evaluated by activated charcoal ingestion and measured in days in 20 children during a double-blind clinical trial comparing GOS to placebo.

| Product | D0 (days) | D30 (days) |
|---------|-----------|------------|
| GOS | 3.70 | 1.99 |
| Placebo | 3.49 | 3.94 |

Patients reported no adverse general symptom during the trial, even when specifically questioned about an eventual osmotic GOS effect.

5. Discussion

This clinical trial evaluated the effect of the prebiotic galactooligosaccharides (GOS) compared to placebo on functional constipation symptoms in children. GOS was significantly superior to placebo at increasing bowel movement frequency and decreasing stool consistency. No adverse effects were reported during the trial.

Constipated children whose caregivers seek medical care in Brazilian primary health care settings, usually complain of hard stools and intervals between bowel movements that are longer than 2 days as the main symptoms and less than 15% refer fecal soiling(19). Therapy prescribed by primary care physicians to children presenting for the first time with constipation varies considerably. Usually less than 50% of these patients are successfully treated(20, 21). In all patients studied, bowel movement frequency was lower than 3 times per week with the passage of hard stools, causing discomfort during defecation. When treated with GOS, all presented with complaints during a 4-week period. Although patients had been instructed specifically to observe complaints secondary to the osmotic effect of the solution administered, these symptoms were not reported.

These data indicate the unique effectiveness of GOS in the treatment of mild constipation in children. Although we were unable to observe a bifidogenic effect on microbiota or an increased fecal SCFA, assessment of oroanal transit time indicated an acceleration of gastrointestinal motor activity, consistent with the hypothesis of a prebiotic GOS action. To the extent of our investigation in the literature researched, we found no clinical trials using GOS in constipated children and adolescents. Studies in children and adolescents managed in outpatient clinics are highly burdensome and require strict adherence to medication measured by frequent home visits.

Studies involving elderly individuals, pregnant women and infants, demonstrated that GOS use improved constipation symptoms(22-25). The results obtained in this trial may only be applicable to children with mild constipation. The children studied had a homogeneous clinical picture related to duration and severity of functional intestinal constipation. This homogeneity permitted evaluation of these children as a group responding similarly to the use of the prebiotic studied, since the determining or aggravating etiologic factors associated with constipation are likely to be similar. Absence of complications, such as megarectum or soiling, allowed us to test GOS alone, without the associated use of laxatives or enemas during the trial.

A placebo-controlled clinical trial is an essential requirement for the intervention of functional gastrointestinal disorders(26). A crossover design allows for a comparison between small samples. In studies conducted to evaluate prebiotic effects on infant constipation, the duration of treatment for symptom evaluation ranged from 21 days to 8 weeks(27-29). Based on this evaluation period, a 4-week GOS use was proposed in the present study. This evaluation period was sufficient to observe the prebiotic effect in comparison to placebo use. Previous studies in adults indicated that onset of prebiotic action occurred after a week of GOS consumption(30).

The dose used in the present study was chosen to provide an adequate balance between efficacy and tolerance, according to trial results in adults, in whom the addition of doses of 2.5 to 10 g/day of fructooligosaccharides(31). (HIRAYAMA, 1989), and 12 g/day

of GOS(32) (SAIRANEN, 2007) resulted in increased fecal bifidobacterial count in healthy individuals, in an effective and well-tolerated manner(32-36). An excessive amount of GOS could promote an adverse effect such as osmotic diarrhea. The safe estimated dose in adults is 0.3 to 0.4g/kg/day and 2.5 g GOS is sufficient to induce a bifidogenic effect(30, 37).

Therapeutic effects of prebiotics on constipation may be associated with prebiotic effects on intestinal motor activity. In isolated animal tissues, probiotic bacteria (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) stimulated ileal contraction and induced colonic relaxation(38). A delay in bowel transit, myoenteric neuron alterations and smooth muscle hypocontractility occurred in germ-free animals. However, when inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or *Bifidobacterium bifidum*, the migratory motor complex and intestinal transit were accelerated in these animals. An inverse effect was observed when strains of *E.coli* were inoculated in gnotobiotic animals(39). Studies demonstrated differences in gut microbiota in healthy individuals compared to patients with chronic constipation(40, 41). AGCC, the main metabolite of fermentative activity of the gut microbiota, accelerates bowel transit time(42, 43). Finally, trials in humans demonstrate that the administration of *Bifidobacterium animalis* shortened colonic transit in healthy and constipated individuals(44).

The use of the prebiotic GOS was effective at improving clinical symptoms of intestinal functional constipation in children and may represent a coadjuvant measure in the treatment of constipation. Further studies are required to reinforce evidence of this observation

References

1. Tabbers MM, Bouluyt N, Berger MY, Benninga MA. Clinical practice: Diagnosis and treatment of functional. Eur J Pediatr. 2011;170:955-63.
2. Pijpers MA, Tabbers MM, Benninga MA, Berger MY. Currently recommended treatments of childhood constipation are not evidence based: a systematic literature review on the effect of laxative treatment and dietary measures. Arch Dis Child. 2009;94:117-31.
3. Rajindrajith S, Devanarayana NM. Constipation in children: Novel insight into epidemiology, pathophysiology and management. J Neurogastroenterol Motil. 2011;17:35-47.
4. Salvini F, Granieri L, Germellaro L, Giovannini M. Probiotics, Prebiotics, and child health: Where are you going? J Int Med Res. 2004;32:97-108.
5. Vandenplas Y, Veereman-Wauters G, Greef E, Peeters S, Casteels A, Mahler T, et al. Probiotics and prebiotics in prevention and treatment of diseases in infants and children. J Pediatr (Rio J). 2011;84:292-300.
6. Nobrega JF, Trabulsi LR, Keller R, Fanzolin MR, Alves RCB, Santos MF, et al. Efeitos do prebiótico (oligossacarídeo) em leite em pós modificado na flora intestinal. Rev Paul Pediatría 2004;22:205-11.
7. Boehm G, Jelinek J, Knol J, Roabet LM, Stahl B, Vos P, et al. Prebiotics an Immune responses. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;39:772-3.

8. Fanaro S, Boehm G, Garsen J, Knol J, Mosca F, Stahl B, et al. Galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: a review. *Acta Paediatr.* 2005;94:22-6.
9. Bongers ME, de Lorijn F, Reitsma JB, Groeneweg M, Taminiu JA, Benninga MA. The clinical effect of a new infant formula in term infants with constipation: a double-blind, randomized cross-over trial. *Nutr J.* 2007;11:8.
10. Costalos C, Kapiki A, Apostolou M, Papatoma E. The effect of a prebiotic supplement formula on growth and stool microbiology of term infants. *Early Human Development.* 2008;84:45-9.
11. Veereman G. Pediatric applications of inulin and oligofructose. *J Nutr.* 2007;137:2585S-9S.
12. Moro GE, Arslanoglu S. Reproducing the bifidogenic effect of human milk in formula – fed infants: why and how? *Acta Paediatr.* 2005a;94:14-7.
13. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes E, Hyams JS, Staiano A. Childhood functional gastrointestinal disorders: child/adolescent. *Gastroenterology.* 2006;130(5):1527-37.
14. SAS. System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.2. SAS Institute Inc, 2002-2008, Cary, NC, USA.
15. Ohtsuoka K, Benno T, Endo K, Ueda H, Ozawa O, Uchida T, et al. Effects of 4 galactosyl-lactose intake on human fecal flora. *Bifidus.* 1989;2:143-9.
16. Mwenya B, Santoso B, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, Arai I, et al. Effects of including β -4 galacto- oligosaccharides , lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology.* 2004;115:313-26.
17. Molla A, Molla AM, Sarker AS, Khatun M. Whole-gut transit time and its relationship to absorption of macronutrients during diarrhoea and after recovery. *Scand J Gastroenterol.* 1983;18:537-43.
18. Rubin G, Dale A. Chronic constipation in children. *BMJ.* 2006;333:1051-5.
19. Del Ciampo IR, Galvão LC, Del Ciampo LA, Fernandes MI. Prevalence of chronic constipation in children at a primary health care unit. *J Pediatr (Rio J).* 2002;78:497-502.
20. Borowitz SM, Cox DJ, Kovatchev B, Ritterband LM, Sheen J, Sutphen J. Treatment of childhood constipation by primary care physicians: efficacy and predictors of outcome. *Pediatrics.* 2005;115:873-7. Epub 2005/04/05.
21. Burgers R, Bonanno E, Madarena E, Graziano F, Pensabene L, Gardner W, et al. The care of constipated children in primary care in different countries. *Acta Paediatr.* 2012;101:677-80. Epub 2012/02/23.
22. Deguchi Y, Matsumoto K, Ito A, Watanuki M. Effects of beta 1-4 galactooligosaccharides administration on defecation of healthy volunteers with a tendency to constipation. *Jap J of Nutr.* 1997;55:13-22.
23. Teuri U, Korpela R. Galacto-oligosaccharides relieve constipation in elderly people. *Ann Nutr Metabolism.* 1998;42:319-27.

24. Agostini C, Axelsson I, Goulet O, Koletzko B, Michaelsen K, Puntis JW, et al. Prebiotic oligosaccharides in dietetic products for infants: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004;39:465-73.
25. Moro G, Minoli I, Mosca M, Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, et al. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002;34:291-5. Epub 2002/04/20.
26. Van Zanten SJOV, Talley NJ, Bytzer P, Klein KB, Whorwell PJ, Zinsmeister AR. Design of treatment trials for functional gastrointestinal disorders. *Gut.* 1999;45:II 69-117.
27. Boehm G, Lidestri M, Casetta P, Jelinek J, Negretti F, Stahl B, et al. Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition.* 2002;86:F178-81. Epub 2002/04/30.
28. Scholtens PA, Alliet P, Raes M, Alles MS, Kroes H, Boehm G, et al. Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short – chain galactooligosaccharides and long chain fructooligosaccharides. *J Nutr.* 2008;138:1141-7.
29. Moro GE, Stahl B, Fanaro S, Jelinek J, Boehm G, Coppa GV. Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in the faeces of formula-fed infants. *Acta Paediatr Suppl.* 2005b;94:27-30. Epub 2005/10/11.
30. Sako T, Matsumoto K, Tanaka R. Recent progress on research and applications of non – digestible galacto – oligosaccharides. *International Dairy Journal.* 1999;9:69-80.
31. Hirayama M, Sumi N, Hidaka H. Purification and properties of fructooligosaccharides producing beta-fructofuranosidase from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Agric Biol Chem.* 1989;53:667-73.
32. Sairanen U, Piirainen L, Nevala R, Korpela R. Yoghurt containing galacto-oligosaccharides, prunes and linseed reduces the severity of mild constipation in elderly subjects. *European journal of clinical nutrition.* 2007;61:1423-8. Epub 2007/02/15.
33. Bouhnik Y, Achour L, Paineau D, Riottot M, Attar A, Bornet F. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Nutr J.* 2007;6:42. Epub 2007/12/07.
34. Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Paineau D, Bornet F. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr J.* 2006;5:8. Epub 2006/03/30.
35. Bouhnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, et al. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr.* 1999;129:113-6. Epub 1999/01/23.
36. Ito M, Deguchi Y, Miyamoro A, Matsumoto K, Kikuchi H, Matsumoto K, et al. Effects of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microbial Ecol.* 1990;3:285–92.
37. Lamsal BP. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. *Journal of the science of food and agriculture.* 2012;92:2020-8. Epub 2012/04/28.

38. Massi M, Ioan P, Budriesi R, Chiarini A, Vitali B, Lammers KM, et al. Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal motility in guinea-pig isolated tissue. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2006;12(37):5987-94. Epub 2006/09/30.
39. Husebye E, Hellstrom PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2001;280:G368-80. Epub 2001/02/15.
40. Salminen S, Salminen E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scandinavian journal of gastroenterology Supplement*. 1997;222:45-8. Epub 1997/01/01.
41. Zoppi G, Cinquetti M, Luciano A, Benini A, Muner A, Bertazzoni Minelli E. The intestinal ecosystem in chronic functional constipation. *Acta Paediatr*. 1998;87:836-41. Epub 1998/09/15.
42. Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki SI, Kuwahara A. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2008;59:251-62. Epub 2008/10/01.
43. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester JK, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105:16767-72. Epub 2008/10/22.
44. Agrawal A, Houghton LA, Morris J, Reilly B, Guyonnet D, Goupil Feuillerat N, et al. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2009;29:104-14. Epub 2008/09/20.

ANEXOS |

ANEXO 1
CONSENTIMENTO PÓS –INFORMADO

TÍTULO DO ESTUDO: EFEITO DE UM PREBIÓTICO NO HÁBITO INTESTINAL DE ESCOLARES.

Caro participante:

Conforme requisito do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, estou me apresentando a você e descrevendo brevemente a pesquisa que estarei realizando.

Meu nome é Célia Aparecida Valbon Beleli, sou nutricionista e irei realizar pós graduação e essa pesquisa será a tese que apresentarei ao final do Mestrado.

O projeto tem como tema o tratamento da constipação intestinal crônica em crianças, as crianças que tem prisão de ventre ou dificuldade para fazer coco, e que não tem nenhuma outra doença associada. Atualmente é recomendado o uso de laxantes, e, muitas vezes lavagem intestinal, fibras na dieta e de uso do banheiro. Porém em muitos casos, não há sucesso com essas medidas, fato que nos leva a buscar outras formas de tratamento. Atualmente é bastante estudada a ação de substancias alimentares chamadas de prebióticos, o nosso em especial chama-se Galactoligossacarídeo (GOS), uma substância alimentar originária do leite, que auxilia na melhora da função intestinal. Esse é o fato que queremos avaliar.

Esse produto é uma substância alimentar com propriedade de melhorar a constipação intestinal, não é droga nem laxativo, não tem efeito no sangue e o risco de sua utilização é desprezível

Caso haja algum desconforto gastrointestinal (cólicas, amolecimento das fezes, gases e aumento de número de evacuações) o uso do produto poderá ser interrompido se o paciente não desejar continuar com o estudo.

O produto será oferecido por mim, não acarretando qualquer custo para sua aquisição.

Os pacientes deverão tomar o produto por 4 semanas e serão avaliados a cada 15 dias.

Haverá uma pausa por 15 dias e reiniciarão novamente com o produto por mais 4 semanas ,

Teremos 2 grupos de participantes no qual, um grupo receberá o produto e outro uma substância parecida mas sem ação chamada placebo. Os participantes e pesquisadora não saberão qual participante estará recebendo a substancia a ser estudada e o placebo para não interferir nos resultados.

Os retornos serão avaliados por mim no ambulatório da UBS

As pessoas não são obrigadas a participarem do estudo e podem desistir de continuar nele a qualquer momento, sem que isso prejudique o atendimento médico.

Os nomes não serão utilizados nos documentos pertencentes a este estudo e a confiabilidade dos registros médicos é garantida.

Desde já agradeço a atenção e colaboração e coloco-me à disposição para maiores esclarecimentos ou qualquer dúvida.

Nome do paciente: _____

Ass; _____

Data: _____

Pai/mãe ou responsável legal: _____

Ass: _____

Testemunha: _____

Ass; _____

Pesquisador; _____

Ass; _____

ANEXO 2



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 26/06/09.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 366/2009 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0280.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "EFEITO DE UM PREBIÓTICO NO HÁBITO INTESTINAL DE ESCOLARES".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Célia Aparecida Valbon Beleli.

INSTITUIÇÃO: Secretaria Municipal de Saúde de Campinas

APRESENTAÇÃO AO CEP: 07/05/2009

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 26/06/10 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Avaliar o efeito do galactooligossacarídeo (GOS) no hábito intestinal de crianças com constipação intestinal.

III - SUMÁRIO

O estudo será realizado em 2 UBS da cidade de Campinas. Entre pacientes de faixa etária pediátrica (6 a 16 anos), que procurarem espontaneamente a UBS e quando estabelecido o diagnóstico de constipação intestinal pelo médico ou auxiliar de saúde, os pais ou responsável pelos pacientes serão convidados a participar do estudo. Em caso afirmativo, responderão a um questionário denominado Tabela de pontuação de sintomas. Os pacientes serão então encaminhados à nutricionista pesquisadora, onde receberão orientações nutricionais para constipação intestinal. Na consulta quinzenal com a nutricionista pesquisadora serão avaliados os sintomas. Os sujeitos receberão o produto GOS ou placebo, que serão administrados de forma duplo-cega. Os produtos fornecidos pela Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp serão acondicionados em embalagens de material plástico com a capacidade para 10 ml. O produto (GOS ou placebo) será administrada por 4 semanas (1 frasco/dia), seguido de período de washout (intervalo de 15 dias) e novamente administrada por mais 4 semanas. A seqüência de administração será dividida em 2 grupos: GOS-washout-placebo e placebo-washout-GOS. As informações coletadas referem-se a hábitos alimentares e ao hábito intestinal. A intensidade e presença dos sintomas serão avaliados quinzenalmente, através de pontuação. O trabalho será desenvolvido na UBS, já contando com a autorização da Secretaria de Saúde do município de Campinas.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br



V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VI I- DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 26 de maio de 2009.

Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo

VICE-PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM/UNICAMP

ANEXO 3

Tabela de sintomas

| FREQUENCIA DAS EVACUAÇÕES | ESCORES |
|---------------------------------------|---------|
| Até 3 vezes por semana | 1 |
| 1-2 vezes por semana | 2 |
| Menos que 1 vez por semana | 3 |
| DOR OU DIFICULDADE PARA EVACUAR | |
| Sem qualquer dificuldade | 1 |
| Or e /ou dificuldade episódica | 2 |
| Dor e / ou dificuldade frequente | 3 |
| PRESENÇA DE ESCAPE FECAL | |
| Ausente | 0 |
| Presente | 2 |
| CONSISTÊNCIA DAS FEZES | |
| Não evacua espontaneamente | 40 |
| Pedaços duros separados | 30 |
| Banana com rachos profundos | 25 |
| Banana com rachos superficiais | 20 |
| Banana macia | 0 |
| Pedaços macios separados | 0 |
| Pedaços fofos com bordas imperfeitas | 0 |
| Diarreico , sem pedaços sólidos | 0 |
| SINTOMAS DE DESCONFORTO | |
| Sem gases ou dor | 0 |
| Pequenas cólicas | 1 |
| Gase em pequena quantidade | 1 |
| Gases em grande quantidade | 2 |
| Dor abdominal | 2 |
| SACIEDADE (APETITE/ VONTADE DE COMER) | |
| Todos os dias | 3 |
| Duas vezes por semana | 2 |
| Não refere | 1 |

APÊNDICE



APENDICE 1

Tabela 1 - Distribuição dos valores do escore clínico para sintomas de constipação, atribuídos, em um ensaio clínico tipo *cross over*, em 2 períodos de 30 dias, denominados por 1° e 2° mês, com sequências de uso do placebo (P) ou galactoligossacarídeo (G), segundo a sequência: G→P e P→G; em 3 avaliações realizadas nos dias zero(D0), 15(D15) e 30D(30) de cada período.

| Sequencia | Período | Tempo | N | Mediana | Desvio padrão | Mínimo | Média | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|---------|---------------|--------|-------|--------|
| GP | 1 | GD0 | 11 | 35,6 | 3,3 | 30 | 37 | 40 |
| GP | 1 | GD15 | 11 | 18,8 | 12,5 | 3 | 24 | 37 |
| GP | 1 | GD30 | 11 | 12,7 | 11,7 | 3 | 5 | 31 |
| GP | 2 | PD0 | 11 | 31,0 | 4,4 | 24 | 31 | 40 |
| GP | 2 | PD15 | 11 | 32,7 | 4,5 | 24 | 32 | 40 |
| GP | 2 | PD30 | 11 | 33,3 | 3,7 | 29 | 33 | 40 |
| PG | 1 | PD0 | 9 | 33,0 | 3,4 | 30 | 32 | 40 |
| PG | 1 | PD15 | 9 | 33,4 | 3,3 | 30 | 32 | 39 |
| PG | 1 | PD30 | 9 | 32,7 | 3,2 | 30 | 32 | 39 |
| PG | 2 | GD0 | 9 | 33,3 | 3,0 | 30 | 32 | 39 |
| PG | 2 | GD15 | 9 | 19,9 | 9,0 | 4 | 24 | 26 |
| PG | 2 | GD30 | 9 | 13,2 | 11,0 | 3 | 5 | 26 |

Tabela 2 - Valores de escores clínicos nos primeiros 30 dias de estudo comparando crianças iniciando com G e crianças iniciando com P

| Produto | Tempo | N | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Média | Máximo |
|---------|-------|----|-------|---------------|--------|-------|--------|
| G | D0 | 11 | 36 | 3,3 | 30 | 37 | 40 |
| G | D15 | 11 | 19 | 12,5 | 3 | 24 | 37 |
| G | D30 | 11 | 13 | 11,7 | 3 | 5 | 31 |
| P | D0 | 9 | 33 | 3,4 | 30 | 32 | 40 |
| P | D15 | 9 | 33 | 3,3 | 30 | 32 | 39 |
| P | D30 | 9 | 33 | 3,2 | 30 | 32 | 39 |

P (Anova) <0,0001

Tabela 3 - Valores de escores clínicos no segundo mês de estudo comparando crianças iniciando com G e crianças iniciando com P.

| Produto | Tempo | N | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Média | Máximo |
|---------|-------|----|-------|---------------|--------|-------|--------|
| P | D0 | 11 | 31 | 4,4 | 24 | 31 | 40 |
| P | D15 | 11 | 33 | 4,5 | 24 | 32 | 40 |
| P | D30 | 11 | 33 | 3,7 | 29 | 33 | 40 |
| G | D0 | 9 | 33 | 3 | 30 | 32 | 39 |
| G | D15 | 9 | 20 | 9 | 4 | 24 | 26 |
| G | D30 | 9 | 13 | 11 | 3 | 5 | 26 |

P (Anova) < 0,0001

Tabela 4 - Valores absolutos das médias ajustadas dos escores para sintomas de constipação intestinal em D0, D15 e D30

| Produto | D0 | D15 | D30 |
|---------|-------|-------|-------|
| G | 34,48 | 19,35 | 12,97 |
| P | 32,00 | 33,08 | 32,96 |

Tabela 5 - Análise da frequência das evacuações

| Sequência | Periodo | Tempo | N | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|-------|---------------|--------|---------|--------|
| GP | D0 | G1 | 11 | 1,5 | 0,5 | 1 | 2 | 2 |
| GP | D15 | G2 | 11 | 1,1 | 0,3 | 1 | 1 | 2 |
| GP | D30 | G3 | 11 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| GP | D0 | P1 | 11 | 1,4 | 0,5 | 1 | 1 | 2 |
| GP | D15 | P2 | 11 | 1,5 | 0,5 | 1 | 1 | 2 |
| GP | D30 | P3 | 11 | 1,5 | 0,5 | 1 | 2 | 2 |
| PG | D0 | P1 | 9 | 1,7 | 0,7 | 1 | 2 | 3 |
| PG | D15 | P2 | 9 | 1,8 | 0,7 | 1 | 2 | 3 |
| PG | D30 | P3 | 9 | 1,6 | 0,7 | 1 | 1 | 3 |
| PG | D0 | G1 | 9 | 1,7 | 0,7 | 1 | 2 | 3 |
| PG | D15 | G2 | 9 | 1,1 | 0,3 | 1 | 1 | 2 |
| PG | D30 | G1 | 9 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |

Tabela 6 - Valores absolutos das medias ajustadas dos escores para frequência das evacuações em D0 e D15.

| Produto | D0 | D15 |
|---------|------|------|
| G | 1,60 | 1,10 |
| P | 1,51 | 1,61 |

Tabela 7 - Análise descritiva do sintoma da consistência as fezes

| Sequencia | Periodo | Tempo | N | Média | Desvio Padrão | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|-------|---------------|--------|---------|--------|
| GP | D0 | G1 | 11 | 28,2 | 2,5 | 25 | 30 | 30 |
| GP | D15 | G2 | 11 | 14,1 | 11,6 | 0 | 20 | 30 |
| GP | D30 | G3 | 11 | 8,2 | 11,5 | 0 | 0 | 25 |
| GP | D0 | P1 | 11 | 25 | 3,2 | 20 | 25 | 30 |
| GP | D15 | P2 | 11 | 26,2 | 3,2 | 20 | 25 | 30 |
| GP | D30 | P3 | 11 | 26,8 | 2,5 | 25 | 25 | 30 |
| PG | D0 | P1 | 9 | 26,1 | 2,2 | 25 | 25 | 30 |
| PG | D15 | P2 | 9 | 26,7 | 2,5 | 25 | 25 | 30 |
| PG | D30 | P3 | 9 | 26,1 | 2,2 | 25 | 25 | 30 |
| PG | D0 | G1 | 9 | 26,7 | 2,5 | 25 | 25 | 30 |
| PG | D15 | G2 | 9 | 15,6 | 8,8 | 0 | 20 | 20 |
| PG | D30 | G1 | 9 | 8,9 | 10,5 | 0 | 0 | 20 |

Não houve diferença significativa entre D0 de G e P, $p=0,0070$, já na avaliação de D 15 $p<0,0001$ e D 30 $p<0,0001$.

Tabela 8 - Valores absolutos das medias ajustadas dos escores para a consistência das fezes em D0, D15 e D30

| Produto | D0 | D15 | D30 |
|---------|-------|-------|-------|
| G | 27,42 | 15,95 | 8,53 |
| P | 25,55 | 26,51 | 26,46 |

Tabela 9 - Distribuição do tempo de trânsito oro anal , em dias, avaliado pela ingestão de carvão ativado

| Sequencia | Período | Tempo | N | Média | Desvio padrão | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|---|-------|---------------|--------|---------|--------|
| GP | D0 | G1 | 8 | 4,1 | 0,6 | 3 | 4 | 5 |
| GP | D30 | G3 | 8 | 2,1 | 0,4 | 2 | 2 | 3 |
| PG | D0 | P1 | 8 | 3,1 | 0,6 | 2 | 3 | 4 |
| PG | D30 | P3 | 8 | 3,8 | 0,5 | 3 | 4 | 4 |
| PG | D0 | P1 | 7 | 3,9 | 1,3 | 2 | 4 | 6 |
| PG | D30 | P3 | 7 | 4,1 | 1,5 | 2 | 4 | 6 |
| GP | D0 | G1 | 7 | 3,3 | 1,1 | 2 | 3 | 5 |
| GP | D30 | G3 | 7 | 1,9 | 0,9 | 1 | 2 | 3 |

Tabela 10 - Valores absolutos das medias ajustadas dos escores do tempo do transito oro anal em dias através do carvão ativado

| Produto | D0 | D30 |
|---------|------|------|
| G | 3,70 | 1,99 |
| P | 3,49 | 3,94 |

APÊNDICE 2

De: Câmara de Pesquisa - Estatística / FCM
Para: Célia Ap.V.Beleli - Pediatria
Data: 22/Mai/2012 e 01/Jun/2012

EFEITO DE UM PREBIÓTICO - GALACTOOLIGOSSACARÍDEO - EM PACIENTES COM CONSTIPAÇÃO INTESTINAL

OBJETIVOS

Descrever os grupos estudados.
Verificar a influência da droga no escore de gravidade da doença.

METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Análise descritiva através de medidas de posição e dispersão para variáveis numéricas.

O estudo foi montado segundo um delineamento *crossover* com 2 sequências de avaliação e 2 tratamentos (A e B). Onze pacientes foram avaliados de acordo com a sequência AB e nove pacientes com a sequência BA. O escore de gravidade foi medido no início, 2ª e 4ª semanas em cada experimento.

O objetivo deste tipo de estudo é eliminar a variação na comparação dos tratamentos observando todos os tratamentos na mesma unidade experimental.

Para a análise deste estudo utilizou-se ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%.

RESULTADOS

Quadro 1 - Análise descritiva para o sexo e sequências empregadas.

| SEXO | Frequency | Percent | Cumulative Frequency |
|------|-----------|---------|-------------------------|
| F | 12 | 60.00 | 12 |
| M | 8 | 40.00 | 20 |

| SEQ | Frequency | Percent | Cumulative Frequency |
|-----|-----------|---------|-------------------------|
| AB | 11 | 55.00 | 11 |
| BA | 9 | 45.00 | 20 |

Quadro 2 – Análise descritiva e comparação do escore de avaliação da constipação intestinal.

| sequencia | periodo | tempo | N | Média | dp | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|-------|------|--------|---------|--------|
| AB | 1 | 1 | 11 | 35.6 | 3.3 | 30.0 | 37.0 | 40.0 |
| | | 2 | 11 | 18.8 | 12.5 | 3.0 | 24.0 | 37.0 |
| | | 3 | 11 | 12.7 | 11.7 | 3.0 | 5.0 | 31.0 |
| | 2 | 1 | 11 | 31.0 | 4.4 | 24.0 | 31.0 | 40.0 |
| | | 2 | 11 | 32.7 | 4.5 | 24.0 | 32.0 | 40.0 |
| | | 3 | 11 | 33.3 | 3.7 | 29.0 | 33.0 | 40.0 |
| BA | 1 | 1 | 9 | 33.0 | 3.4 | 30.0 | 32.0 | 40.0 |
| | | 2 | 9 | 33.4 | 3.3 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |
| | | 3 | 9 | 32.7 | 3.2 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |
| | 2 | 1 | 9 | 33.3 | 3.0 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |
| | | 2 | 9 | 19.9 | 9.0 | 4.0 | 24.0 | 26.0 |
| | | 3 | 9 | 13.2 | 11.0 | 3.0 | 5.0 | 26.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas somente periodo 1

| | |
|---------------|---------|
| Efeito | valor-p |
| Produto | 0.0075 |
| Tempo | <0.0001 |
| Tempo*produto | <0.0001 |

Fixando tempo e comparando produtos
Tempo=1, valor-p=0.1739
Tempo=2, valor-p=0.0004
Tempo=3, valor-p<0.0001

Fixando produto e comparando tempos
A, valor-p<0.0001 diferenças entre 1 e 2; 1 e 3
B, valor-p=0.4493

Análise descritiva

| Produto | tempo | N | Mean | Std Dev | Minimum | Median | Maximum |
|---------|-------|----|------|---------|---------|--------|---------|
| A | 1 | 11 | 35.6 | 3.3 | 30.0 | 37.0 | 40.0 |
| | 2 | 11 | 18.8 | 12.5 | 3.0 | 24.0 | 37.0 |
| | 3 | 11 | 12.7 | 11.7 | 3.0 | 5.0 | 31.0 |
| B | 1 | 9 | 33.0 | 3.4 | 30.0 | 32.0 | 40.0 |
| | 2 | 9 | 33.4 | 3.3 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |
| | 3 | 9 | 32.7 | 3.2 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas somente periodo 2

| | |
|---------------|---------|
| Efeito | valor-p |
| Produto | 0.0075 |
| Tempo | <0.0001 |
| Tempo*produto | <0.0001 |

Fixando tempo e comparando produtos
Tempo=1, valor-p=0.1237
Tempo=2, valor-p<0.0001
Tempo=3, valor-p<0.0001

Fixando produto e comparando tempos
A, valor-p<0.0001 diferenças entre 1 e 2; 1 e 3
B, valor-p=0.0105, diferenças entre 1 e 2; 1 e 3

| Produto | tempo | N | Mean | Std Dev | Minimum | Median | Maximum |
|---------|-------|----|------|---------|---------|--------|---------|
| A | 1 | 9 | 33.3 | 3.0 | 30.0 | 32.0 | 39.0 |
| | 2 | 9 | 19.9 | 9.0 | 4.0 | 24.0 | 26.0 |
| | 3 | 9 | 13.2 | 11.0 | 3.0 | 5.0 | 26.0 |
| B | 1 | 11 | 31.0 | 4.4 | 24.0 | 31.0 | 40.0 |
| | 2 | 11 | 32.7 | 4.5 | 24.0 | 32.0 | 40.0 |
| | 3 | 11 | 33.3 | 3.7 | 29.0 | 33.0 | 40.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos

| Efeito | valor-p |
|---------------------|---------------------|
| sequencia | 0.9427 |
| Paciente(sequencia) | 0.0004 |
| produto | <0.0001 |
| período | 0.0693 |
| CO | 0.9251 (carry-over) |
| tempo | <0.0001 |
| tempo*seq | 0.7808 |
| tempo*Produto | <0.0001 |
| tempo*PERÍODO | 0.1210 |

Como a interação tempo*produto resultou significativa é preciso estudá-la fazendo os desdobramentos dos fatores. A interação avalia se um efeito depende do outro ou se os efeitos são independentes.

Fixando tempo e comparando produtos:

| tempo | Valor-p |
|-------|---------|
| 1 | 0.0022 |
| 2 | <0.0001 |
| 3 | <0.0001 |

| Produto | escore1 | escore2 | escore3 |
|---------|------------|------------|------------|
| | LSMEAN | LSMEAN | LSMEAN |
| A | 34.4848485 | 19.3535354 | 12.9747475 |
| B | 32.0000000 | 33.0858586 | 32.9696970 |

Fixando produto e comparando tempos:

| PRODUTO | Valor-p (diferenças) |
|---------|-------------------------------|
| A | <0.0001 (1 e 2; 1 e 3; 2 e 3) |
| B | 0.0646 |

Quadro 3 - Análise descritiva e comparação da frequência de evacuação.

| sequencia | período | tempo | N | Média | dp | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|-------|-----|--------|---------|--------|
| AB | 1 | 1 | 11 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 2.0 |
| | | 2 | 11 | 1.1 | 0.3 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| | | 3 | 11 | 1.0 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| | 2 | 1 | 11 | 1.4 | 0.5 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| | | 2 | 11 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| | | 3 | 11 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 2.0 |
| BA | 1 | 1 | 9 | 1.7 | 0.7 | 1.0 | 2.0 | 3.0 |
| | | 2 | 9 | 1.8 | 0.7 | 1.0 | 2.0 | 3.0 |
| | | 3 | 9 | 1.6 | 0.7 | 1.0 | 1.0 | 3.0 |
| | 2 | 1 | 9 | 1.7 | 0.7 | 1.0 | 2.0 | 3.0 |
| | | 2 | 9 | 1.1 | 0.3 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| | | 3 | 9 | 1.0 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos (tempos 1 e 2)

| Efeito | valor-p |
|---------------------|---------------------|
| sequencia | 0.4507 |
| Paciente(sequencia) | <0.0001 |
| produto | 0.0090 |
| período | 0.1334 |
| CO | 0.3115 (carry-over) |
| tempo | 0.0193 |
| tempo*seq | 0.9513 |
| tempo*Produto | 0.0009 |
| tempo*PERÍODO | 0.8445 |

Fixando tempo e comparando produtos:

| tempo | Valor-p |
|-------|---------|
| 1 | 0.1964 |
| 2 | 0.0009 |

| Produto | Fregevac1 | Fregevac2 |
|---------|------------|------------|
| | LSMEAN | LSMEAN |
| A | 1.60606061 | 1.10101010 |
| B | 1.51515152 | 1.61616162 |

Fixando produto e comparando tempos:

| PRODUTO | Valor-p |
|---------|---------|
| A | 0.0014 |
| B | 0.1721 |

Quadro 4 - Análise descritiva e comparação da consistência.

| sequencia | periodo | tempo | N | Média | dp | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|-------|----|-------|------|--------|---------|--------|
| AB | 1 | 1 | 11 | 28.2 | 2.5 | 25.0 | 30.0 | 30.0 |
| | | 2 | 11 | 14.1 | 11.6 | 0.0 | 20.0 | 30.0 |
| | | 3 | 11 | 8.2 | 11.5 | 0.0 | 0.0 | 25.0 |
| | 2 | 1 | 11 | 25.0 | 3.2 | 20.0 | 25.0 | 30.0 |
| | | 2 | 11 | 26.4 | 3.2 | 20.0 | 25.0 | 30.0 |
| | | 3 | 11 | 26.8 | 2.5 | 25.0 | 25.0 | 30.0 |
| BA | 1 | 1 | 9 | 26.1 | 2.2 | 25.0 | 25.0 | 30.0 |
| | | 2 | 9 | 26.7 | 2.5 | 25.0 | 25.0 | 30.0 |
| | | 3 | 9 | 26.1 | 2.2 | 25.0 | 25.0 | 30.0 |
| | 2 | 1 | 9 | 26.7 | 2.5 | 25.0 | 25.0 | 30.0 |
| | | 2 | 9 | 15.6 | 8.8 | 0.0 | 20.0 | 20.0 |
| | | 3 | 9 | 8.9 | 10.5 | 0.0 | 0.0 | 20.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos

| | |
|----------------------|---------------------|
| Efeito | valor-p |
| sequencia | 0.5740 |
| Paciente (sequencia) | 0.0002 |
| produto | <0.0001 |
| periodo | 0.0694 |
| CO | 0.4582 (carry-over) |
| tempo | <0.0001 |
| tempo*seq | 0.8228 |
| tempo*Produto | <0.0001 |
| tempo*PERIODO | 0.2431 |

Como a interação tempo*produto resultou significativa é preciso estudá-la fazendo os desdobramentos dos fatores. A interação avalia se um efeito depende do outro ou se os efeitos são independentes.

Fixando tempo e comparando produtos:

| tempo | Valor-p |
|-------|---------|
| 1 | 0.0070 |
| 2 | <0.0001 |
| 3 | <0.0001 |

| | Consist1 | Consist2 | Consist3 |
|---------|------------|------------|------------|
| Produto | LSMEAN | LSMEAN | LSMEAN |
| A | 27.4242424 | 15.9595960 | 8.5353535 |
| B | 25.5555556 | 26.5151515 | 26.4646465 |

Fixando produto e comparando tempos:

| PRODUTO | Valor-p (diferenças) |
|---------|-------------------------------|
| A | <0.0001 (1 e 2; 1 e 3; 2 e 3) |
| B | 0.0863 |

Quadro 5 - Análise descritiva e comparação do carvão.

| sequencia | periodo | tempo | N | Média | dp | Mínimo | Mediana | Máximo |
|-----------|---------|---------|---|-------|-----|--------|---------|--------|
| AB | 1 | Carvao1 | 8 | 4.1 | 0.6 | 3.0 | 4.0 | 5.0 |
| | | Carvao3 | 8 | 2.1 | 0.4 | 2.0 | 2.0 | 3.0 |
| | 2 | Carvao1 | 8 | 3.1 | 0.6 | 2.0 | 3.0 | 4.0 |
| | | Carvao3 | 8 | 3.8 | 0.5 | 3.0 | 4.0 | 4.0 |
| BA | 1 | Carvao1 | 7 | 3.9 | 1.3 | 2.0 | 4.0 | 6.0 |
| | | Carvao3 | 7 | 4.1 | 1.5 | 2.0 | 4.0 | 6.0 |
| | 2 | Carvao1 | 7 | 3.3 | 1.1 | 2.0 | 3.0 | 5.0 |
| | | Carvao3 | 7 | 1.9 | 0.9 | 1.0 | 2.0 | 3.0 |

Resultados da ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos

| Efeito | valor-p |
|---------------------|---------------------|
| sequencia | 0.8588 |
| Paciente(sequencia) | 0.0244 |
| produto | 0.0015 |
| periodo | 0.0447 |
| CO | 0.8249 (carry-over) |
| tempo | <0.0001 |
| tempo*seq | 0.4165 |
| tempo*Produto | <0.0001 |
| tempo*PERIODO | 0.0026 |

Fixando tempo e comparando produto:

| tempo | Valor-p |
|-------|---------|
| 1 | 0.1513 |
| 3 | <0.0001 |

| Produto | Variable | Mean |
|---------|----------|------|
| A | Carvao1 | 3.7 |
| | Carvao3 | 2.0 |
| B | Carvao1 | 3.5 |
| | Carvao3 | 3.9 |

Fixando tempo e comparando periodos:

| tempo | Valor-p |
|-------|---------|
| 1 | 0.0021 |
| 3 | 0.6804 |

Fixando período e comparando tempos

| PERIODO | Valor-p |
|---------|---------|
| 1 | 0.0002 |
| 2 | 0.1391 |

| PERIODO | Variable | Mean |
|---------|----------|------|
| 1 | Carvao1 | 4.0 |
| | Carvao3 | 3.1 |
| 2 | Carvao1 | 3.2 |
| | Carvao3 | 2.9 |

Fixando produto e comparando tempos

| produto | p-valor |
|---------|---------|
| A | <0.0001 |
| B | 0.0155 |

| Produto | Carvao1 LSMEAN | Carvao3 LSMEAN |
|---------|-------------------|-------------------|
| A | 3.70535714 | 1.99107143 |
| B | 3.49107143 | 3.94642857 |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Khattree, R. e Naik, D.N. (1995). *Applied Multivariate Statistics with SAS Software*. SAS Institute Inc. Cary. NC.

Stokes, M.E., Davis, C.S. e Koch, G.G. (1996). *Categorical Data Analysis Using the SAS System*. SAS Institute Inc. Cary. NC.

PROGRAMA COMPUTACIONAL

SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.2. SAS Institute Inc, 2002-2008, Cary, NC, USA.