LUÍSA LEITE BARROS

**Anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico da síndrome
do intestino irritável em pacientes com doenças inflamatórias
intestinais**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Alberto Queiroz Farias

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Barros, Luísa Leite

Anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para
diagnóstico da síndrome do intestino irritável em
pacientes com doenças inflamatórias intestinais /
Luísa Leite Barros. -- São Paulo, 2020.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Alberto Queiroz Farias.

Descritores: 1.Doenças inflamatórias intestinais
2.Síndrome do intestino irritável 3.Diarreia
4.Infecção 5.Anti-CdtB 6.Anti-vinculina

USP/FM/DBD-068/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha família. Aos meus pais, Carmem Luiza e José Haroldo, pela criação fundamentada no amor, respeito e humildade. Obrigada pelo incentivo constante aos estudos. Devo a vocês tudo o que signifíco hoje.

À Maria Célia, minha segunda mãe, por sua dedicação e zelo.

Aos meus irmãos, Rinaldo e João Pedro, pela amizade verdadeira.

Ao meu namorado, Rafael, pelo companheirismo e amor incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Queiroz Farias, pela confiança e ensinamentos nestes anos de convivência. Obrigada por todo o incentivo e dedicação à pesquisa. O seu apoio foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Ao Dr. Mark Pimentel, pela colaboração e generosidade durante todas as etapas deste trabalho.

À amiga Gabriela Leite, fundamental para a concretização do doutorado.

Ao Dr. Adérson Damião por abrir as portas do seu ambulatório para esta pesquisa e aos colegas Matheus Azevedo e Alexandre Carlos pelo estímulo ao estudo das Doenças Inflamatórias Intestinais.

À Dra. Rejane Mattar por ter acreditado neste projeto e pela realização dos testes respiratórios dos pacientes do estudo.

Ao Dr. Carlos Felipe, pela colaboração com os pacientes do seu ambulatório.

À Caroline, companheira diária, por ter organizado com tanto empenho as amostras e pela ajuda em todas as etapas deste trabalho.

À enfermeira Patrícia, pelo cuidado com a submissão do meu projeto e com o transporte das amostras para o exterior.

À Rose, Lilian, Paula e toda a equipe de enfermagem da Gastroenterologia, que não mediram esforços para me ajudar.

Ao Dr. Cláudio Lyoiti Hashimoto que permitiu que a inclusão dos pacientes no Centro Diagnóstico de Gastroenterologia.

À Dra. Natália Queiroz, Dr. Ricardo Correa Barbuti e Dr. Carlos Walter Sobrado, pelas sugestões e críticas construtivas dadas no exame de qualificação desta tese.

À Vilma Libério, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pela disponibilidade e carinho.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	As doenças inflamatórias intestinais e o seu diagnóstico diferencial	2
1.2	A síndrome do intestino irritável e a sua importância na prática clínica	5
1.3	Sobreposição da síndrome do intestino irritável em pacientes com doenças inflamatórias intestinais	9
1.4	Associação entre SII e Supercrescimento Bacteriano em Intestino Delgado	11
1.5	Marcadores séricos da síndrome do intestino irritável	12
1.5.1	Proteína C reativa ultrasensível (PCR)	12
1.5.2	Calprotectina fecal.....	12
1.5.3	Anti- CdtB e anti-vinculina.....	13
1.6	Justificativa do estudo.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
3	MÉTODOS.....	20
3.1	Desenho do estudo	21
3.2	Casuística	21
3.2.1	Período e local do estudo	21
3.2.2	Crítérios de inclusão	22
3.2.3	Crítérios de exclusão	22
3.3	Determinação dos grupos.....	22
3.3.1	Grupo 1: Doenças inflamatórias intestinais em atividade clínica, laboratorial e endoscópica	23
3.3.2	Grupo 2: Doenças inflamatórias intestinais com persistência da diarreia, porém em remissão profunda	23
3.3.3	Grupo 3: Síndrome do intestino irritável com predomínio de diarreia	23

3.3.4	Grupo 4: Controles sem doença gastrointestinal.....	24
3.4	Avaliação da atividade da doença na DII.....	24
3.4.1	Avaliação da atividade clínica	24
3.4.2	Avaliação laboratorial	24
3.4.3	Colonoscopia.....	25
3.4.4	Teste respiratório para supercrescimento bacteriano	25
3.4.5	Exames específicos do projeto.....	25
3.4.6	Pesquisa dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina.....	26
3.5	Análise estatística	26
3.5.1	Cálculo amostral.....	26
3.5.2	Análise de dados	26
3.6	Aspectos éticos	27
4	RESULTADOS	28
4.1	Caracterização da amostra.....	29
4.2	Resultados anti-CdtB e anti-vinculina	35
5	DISCUSSÃO.....	42
5.1	Desempenho dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para o diagnóstico de SII em pacientes com D	43
5.2	Síndrome de supercrescimento bacteriano em pacientes com SII-D	49
5.3	Direções futuras.....	50
6	CONCLUSÕES	52
7	REFERÊNCIAS	54
8	ANEXOS.....	67

LISTAS

ABREVIATURAS E SIGLAS

Anti-CdtB	Anticorpo anti-cytolethal distending toxin B
CF	Calprotectina fecal
DC	Doença de Crohn
DII	Doenças Inflamatórias Intestinais
PCR	Proteína C reativa
RCU	Retocolite Ulcerativa
SII	Síndrome do Intestino Irritável
SII-D	Síndrome do Intestino Irritável com predomínio de diarreia
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VHS	Velocidade de hemossedimentação

TABELAS

Tabela 1	Características gerais da população do estudo	31
Tabela 2	Estratificação dos pacientes com doenças inflamatórias intestinais	32
Tabela 3	Localização da DC de acordo com os grupos de DII	32
Tabela 4	Localização da RCU de acordo com os grupos de DII.....	33
Tabela 5	Características laboratoriais dos pacientes com DII.....	34
Tabela 6	Valores de densidade óptica dos anticorpos anti-CdtB e anti- vinculina de acordo com os grupos de estudo.....	35
Tabela 7	Valores de densidade óptica dos anticorpos anti-CdtB e anti- vinculina entre os grupos de DII	36
Tabela 8	Positividade do Anti-CdtB entre os grupos do estudo.....	39
Tabela 9	Positividade do anti-vinculina entre os grupos do estudo.....	39
Tabela 10	Correlação entre os valores de anti-CdtB e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano	40

FIGURAS

Figura 1	Critérios de ROMA IV para diagnóstico da síndrome do intestino irritável.....	6
Figura 2	Escala visual de Bristol.....	7
Figura 3	Fisiopatologia da síndrome do intestino irritável pós infecciosa	8
Figura 4	Mecanismo de patogenicidade celular do CdtB	14
Figura 5	Fluxograma de inclusões.....	29
Figura 6 e 7	Valores de densidade óptica do anti-CdtB entre os grupos do estudo	37
Figura 8 e 9	Valores de densidade óptica do anti-vinculina entre os grupos do estudo	38
Figura 10	Correlação entre os valores do anti-CdtB e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano	41
Figura 11	Correlação entre os valores do anti-vinculina e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano	41

RESUMO

Resumo

Barros LL. *Anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico da síndrome do intestino irritável em pacientes com doenças inflamatórias intestinais* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Introdução: As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII), Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU), são desordens de caráter crônico, recidivante, elevada morbidade e impacto para o Sistema Único de Saúde. Apesar de tratamento adequado, alguns pacientes persistem com sintomas que nem sempre são justificados por atividade inflamatória. Nestes casos, o diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável (SII) é frequente, principalmente quando os resultados de calprotectina fecal são inferiores a 50 µg/g. A SII é ainda considerada uma doença funcional com prevalência estimada de até 40% em pacientes com DII e a avaliação clínica exclusiva através dos critérios de ROMA IV é insuficiente para diagnosticar a sobreposição de DII-SII. Em 2015 dois auto-anticorpos, anti-CdtB e anti-vinculina, foram validados como marcadores da SII pós-infecciosa, porém ainda não há evidência na literatura do seu papel diagnóstico em pacientes com DII. **Objetivo:** O objetivo principal do presente trabalho é avaliar a aplicabilidade clínica e o desempenho dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais e persistência de diarreia. O objetivo secundário é observar a coexistência de supercrescimento bacteriano nos pacientes com SII. **Pacientes e Métodos:** Os pacientes foram divididos em 4 grupos: (i) DII em atividade endoscópica e diarreia persistente (mais de 3 evacuações ao dia), (ii) DII em remissão endoscópica - DII-SII, (iii) SII com predomínio de diarreia; (iv) grupo controle. Os critérios de inclusão foram idade superior a 18 anos, presença de diarreia definida como mais de 3 evacuações ao dia e concordância em participar no estudo. Critérios de exclusão: a) outras doenças intestinais; b) antecedente de cirurgia abdominal; c) neoplasia atual ou prévia; d) uso de corticoterapia nos 6 meses anteriores à inclusão no estudo; e) infecção pelo HIV. Foram coletadas amostras de sangue no momento da colonoscopia e a determinação dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina foi realizada por ensaio imunoenzimático indireto. **Resultados:** Foram incluídos 160 pacientes assim distribuídos: grupo i (n= 44); grupo ii (n= 25); grupo iii (n= 45); grupo iv (n= 46). A média de idade foi de 39,5 anos nos pacientes com DII em atividade, 46,5 anos no grupo com DII-SII e 39,5 anos nos pacientes com SII com

predomínio de diarreia e 56,6 anos no grupo controle. Cinquenta e três por cento (37/69) dos pacientes com DII apresentavam diagnóstico de Doença de Crohn. o valor médio do anti-CdtB aferido por densidade óptica foi de $0,71\pm0,48$ no grupo i, $0,71\pm0,43$ no grupo ii, $0,70\pm0,44$ no grupo iii e $0,85\pm0,72$ nos controles. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,95$). Os pacientes com DII-SII apresentaram tendência a níveis mais elevados de anti-vinculina ($1,68\pm1,04$) quando comparados aos pacientes com DII em atividade ($1,50\pm0,81$), SII-D ($1,50\pm0,94$) e controles ($1,63\pm0,9$), sem significância estatística ($p=0,76$). Considerando o ponto de corte descrito na literatura de 1,56 para o anti-CdtB e 1,6 para anti-vinculina, a frequência de positividade foi, respectivamente: DII em atividade $n= 3$ (6,8%) e $n= 21$ (27,7%); DII em remissão $n= 0$ e $n= 12$ (48%); SII-D $n=3$ (6,6%) e $n= 19$ (42,2%); controles $n= 5$ (10,8%) e $n= 23$ (50%). **Conclusões:** Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os níveis séricos e a frequência de anti-CdtB e anti-vinculina entre os grupos de DII em atividade, DII-SII, SII-D e controles. Entretanto, houve tendência de níveis mais elevados de anti-vinculina no grupo DII-SII.

Descritores: Doenças inflamatórias intestinais; Síndrome do intestino irritável; Diarreia; Infecção; Anti-CdtB; Anti-vinculina.

ABSTRACT

Abstract

Barros LL. *Anti-CdtB and anti-vinculin antibodies to diagnose superimposed irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease patients* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Background: Inflammatory bowel diseases (IBD), Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis, are chronic conditions associated with high morbidity and healthcare costs. Despite adequate treatment, a subgroup of IBD patients exhibits persistent gastrointestinal symptoms that are not always related to mucosal damage. In this setting, there is frequent association with Irritable Bowel Syndrome (IBS), especially when fecal calprotectin level is under 50 µg/g. IBS is still considered a functional disease with an estimate prevalence of 40% in IBD patients. ROME IV criteria have limited diagnostic accuracy to diagnose superimposed conditions. In 2015, two autoantibodies, anti-CdtB and anti-vinculin, were validated as post-infectious IBS markers, however there is limited evidence of its role in IBD population. **Objetives:** The primary aim of this study was to assess the clinical applicability of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies to diagnose superimposed Irritable Bowel Syndrome in Inflammatory Bowel Disease patients and persistent diarrhea. The secondary aim was to investigate the prevalence of small intestine bacterial overgrowth in IBS patients. **Methods:** Patients were enrolled into 4 groups: (i) active IBD patients with chronic diarrhea (more than 3 bowel movements/day); (ii) quiescent IBD and chronic diarrhea IBD-IBS (defined by quiescent mucosal inflammation SES-CD ≤ 2 or Mayo score ≤ 1); (iii) IBS predominant diarrhea patients; (iv) healthy controls. Inclusion criteria were age over 18 years old and consent to participate in the study. Exclusion criteria were: other intestinal diseases, previous abdominal surgery or neoplasia, corticosteroid use less than 6 months prior to inclusion, HIV infection. All blood samples were collected at the time of colonoscopy and serum levels of anti-CdtB/anti-vinculin antibodies were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** 160 subjects were included and assigned into group i (n=44); group ii (n=25); group iii (n=45); group iv (n=46). The mean age of active IBD patients was 39.5 years, whereas 46.5 years in the overlapping IBD-IBS group, and 39.5 in the IBS-D group; 53.6% (37/69) of total IBD patients had Crohn’s disease. The mean value of the optical density for anti-CdtB was 0.71 ± 0.48 in active IBD, 0.71 ± 0.43 in quiescent IBD, 0.70 ± 0.44 in IBS-D group and 0.85 ± 0.72 in controls. There were no

statistical differences observed between groups ($p=0.95$). IBD-IBS subjects had a trend to have higher levels of anti-vinculin (1.68 ± 1.04) when compared to active IBD (1.50 ± 0.81), IBS-D (1.50 ± 0.94) and controls (1.63 ± 0.9), without significance differences ($p=0.76$). Considering the cut-off point of 1.56 for anti-CdtB and 1.60 for anti-vinculin reported in literature, the frequency of seropositive cases were, respectively: active IBD $n= 3$ (6.8%) and $n= 21$ (27.7%); quiescent IBD $n=0$ and $n= 12$ (48%); IBS-D $n=3$ (6.6%) and $n=19$ (42.2%); controls $n= 5$ (10.8%) and $n=23$ (50%). **Conclusions:** We did not find distinct levels of either anti-CdtB or anti-vinculin among active or quiescent IBD, IBS-D and healthy controls. Trend for higher anti-vinculin antibodies titers was observed in IBD-IBS.

Descriptors: Inflammatory bowel diseases; Irritable bowel syndrome; Diarrhea; Infection, Anti-CdtB, Anti-vinculin.

1. INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 As Doenças Inflamatórias Intestinais e o seu diagnóstico diferencial

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) representadas pela Doença de Crohn (DC) e Retocolite Ulcerativa (RCU) são consideradas desordens de caráter crônico e progressivo, elevada morbidade, impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes e custos diretos e indiretos para o Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil ^[1].

Nos últimos anos, houve aumento substancial do seu diagnóstico, principalmente em países em desenvolvimento, devido ao reconhecimento precoce da doença e à maior disponibilidade de exames endoscópicos. Em revisão sistemática publicada em 2018 observa-se tendência à estabilização da incidência e manutenção da alta prevalência das DII em nações desenvolvidas, como Estados Unidos, com aumento progressivo da incidência e prevalência em países em desenvolvimento, como o Brasil e alguns países dos continentes asiático e africano ^[2, 3]. Em São Paulo, a taxa de incidência é, em média, de 13,3 casos novos/100.000 habitantes/ano, enquanto a prevalência de DII é de 52,6 casos/100.000 habitantes ^[4].

O padrão etário de acometimento das DII é bimodal com predomínio em indivíduos entre 15 a 40 anos. Em aproximadamente 25% dos casos o diagnóstico é confirmado antes dos 20 anos. Diversos fatores de risco têm sido relacionados às DII como ambientais (urbanização), uso indiscriminado de antibióticos ou antiinflamatórios e a falta de amamentação ^[5, 6].

Sua fisiopatologia não é completamente elucidada, mas envolve desregulação do sistema imune inato e adaptativo, além de resposta inflamatória anormal à microbiota bacteriana comensal em indivíduos geneticamente suscetíveis. Há anos também se reconhece a alteração da função da via Th17, das células T regulatórias e dos genes da autofagia ^[7].

Mais recentemente, algumas linhas de pesquisa têm enfatizado a importância da microbiota intestinal e o papel da disbiose na patogênese das DII ^[8]. Estudos

demonstram uma redução do número de bactérias com propriedades antiinflamatórias e, em contrapartida, um aumento de espécies pró-inflamatórias quando comparados aos controles saudáveis. As alterações mais frequentes incluem um aumento do filo Proteobacteria e Bacteroidetes e redução do filo Firmicutes. Bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta, como o *Faecalibacterium prausnitzii*, estão reduzidas e por conseguinte há menor expressão de células T-regulatórias nestes indivíduos ^[9, 10].

O curso das DII é variável entre atividade inflamatória contínua a períodos intercalados de remissão laboratorial, endoscópica e radiológica. A Doença de Crohn é caracteristicamente marcada por lesão transmural que pode acometer todo o trato gastrointestinal e progredir para formação de fístulas ou estenoses. Os principais sintomas são dor abdominal, diarreia e perda de peso^[6]. Na Retocolite Ulcerativa a diarreia mucossanguinolenta acontece na quase totalidade dos pacientes e as lesões são limitadas à camada mucosa colônica. Tenesmo e puxo também são manifestações clínicas frequentes ao diagnóstico ^[5].

Alguns pacientes com DII apresentam sintomas persistentes de dor abdominal, distensão, flatulência e diarreia aquosa que nem sempre são justificados por atividade inflamatória à colonoscopia. Nestes casos, diagnósticos diferenciais são mandatórios e incluem investigação de intolerâncias alimentares, parasitoses intestinais, doença celíaca, supercrescimento bacteriano e diarreia por má absorção de sais biliares. Alguns pacientes podem apresentar diarreia por dismotilidade secundária às alterações estruturais colônicas irreversíveis. Em outros, os sintomas presentes durante a fase inativa da DII podem ser atribuídos à Síndrome do Intestino Irritável (SII), principalmente quando apresentam resultado de calprotectina fecal inferior a 50 µg/g.

A SII é uma doença que ainda é considerada funcional e é caracterizada por dor abdominal recorrente relacionada a alterações do formato ou consistência das fezes. Sua fisiopatologia e diagnóstico serão descritos adiante ^[11].

Estudos prévios têm demonstrado uma maior prevalência de SII em pacientes com DII em remissão quando comparados à população em geral. A maior metanálise já publicada incluiu 1700 pacientes e estimou uma prevalência de SII 4 vezes maior

nesse subgrupo de pacientes (OR 4,39; 95% IC 2,24–8,61). A prevalência de SII na RCU e na DC em remissão foi de 31 e 41%, respectivamente. A razão de probabilidade na Doença de Crohn foi maior quando comparado à Retocolite Ulcerativa e até 5 vezes maior em relação ao grupo controle^[12]. Entretanto, a maior parte das publicações não excluiu de forma sistemática causas alternativas de sintomas semelhantes à SII nestes pacientes e por este motivo a prevalência exata de SII em DII ainda não é bem estabelecida.

Apesar de controverso na literatura, evidências apontam para a possibilidade de coexistência de certo grau de atividade inflamatória microscópica nestes pacientes já que a calprotectina fecal dosada neste grupo foi superior em relação aos controles assintomáticos ^[13, 14].

Algumas teorias têm sido descritas e propõe que pacientes com a associação de DII e SII apresentem resposta neuronal anormal à inflamação crônica com consequente hipersensibilidade visceral, hiperalgesia e alodínea, além de alteração da motilidade e secreção intestinal. Além disso, há um aumento da permeabilidade intestinal secundário à migração e ativação leucocitária próprias das DII ^[15, 16].

O diagnóstico preciso de SII no subgrupo de pacientes com DII em remissão é essencial para se evitar progressão da terapêutica com medicações de alto custo e com elevado potencial para causar reação adversa. A avaliação clínica exclusiva é insuficiente para distinguir entre mínima atividade inflamatória e SII em si. Na prática atual esta diferenciação é realizada através dos critérios diagnósticos de ROMA IV, por biomarcadores não invasivos como a Proteína C Reativa (PCR) e a calprotectina fecal e com colonoscopia e exames de imagem. Entretanto, não há até o momento um único exame complementar capaz de confirmar a SII neste subgrupo de pacientes com DII que persistem com diarreia, apesar de apresentarem remissão endoscópica ^[17].

1.2 A Síndrome do Intestino Irritável e a sua importância na prática clínica

A SII é ainda reconhecida como uma doença funcional caracterizada por dor abdominal crônica associada à alteração do hábito intestinal, na ausência de causa orgânica identificada. É motivo de até 25% das consultas ao Gastroenterologista nos Estados Unidos e de elevado impacto socioeconômico com um custo indireto anual no seu tratamento de 20 bilhões de dólares ^[18].

A prevalência da SII varia entre 10 a 20% da população adulta, com nítido predomínio por pacientes jovens do sexo feminino. A faixa etária mais acometida é entre 30 a 49 anos, comparada à superior a 50 anos ^[19]. Em uma metanálise publicada em com número amostral superior a 50.000 indivíduos a prevalência estimada de SII foi de 11,8% (95% IC, 7,4%-17,2%)^[20]. Lovell *et al* evidenciaram maior frequência de SII-D (40%) quando comparada à forma constipação ou mista ^[20].

Sua fisiopatologia envolve a combinação de gatilhos ambientais, psicossociais, genéticos, além da relação com a mudança da microbiota intestinal^[21]. Alguns estudos já demonstraram a presença de hiperalgesia visceral, aumento da excitabilidade dos neurônios aferentes e processamento cerebral alterado aos estímulos viscerais nestes pacientes ^[22].

Recentemente, a literatura tem classificado a SII como uma desordem do eixo cérebro-intestino-microbiota representada por uma interação complexa entre o trato gastrointestinal e o sistema nervoso autônomo central, periférico e a via neuroendócrina ^[23]. Uma metanálise publicada por Liu *et al.* identificou número reduzido de cepas de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium prausnitzii* em indivíduos com SII quando comparados aos controles ^[24].

A redução da diversidade bacteriana com aumento do número de bactérias patobiontes modifica a função da mucosa intestinal, reduz a produção de muco, de IgA, de defensinas e aumenta a permeabilidade intestinal a antígenos bacterianos para as camadas mais profundas do intestino. Esses fatores desencadeiam atração de mastócitos, liberação de citocinas e início de uma cascata inflamatória ^[25].

Além disso, pacientes com SII apresentam maior prevalência de transtornos de ansiedade e depressão. A hipótese mais aceita é que a resposta orgânica ao estresse estimula o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal a produzir o hormônio adrenocorticotrófico que atua diretamente na permeabilidade intestinal e na secreção de glicocorticoide ^[26]. A ativação do sistema nervoso simpático resulta em produção exacerbada de adrenalina e/ou noradrenalina pela medula adrenal ^[27]. A combinação destes fatores estimula mastócitos e macrófagos a liberarem citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-1 β .

Atualmente, o diagnóstico de SII é estabelecido a partir de critérios clínicos definidos no consenso de ROMA IV (Figura 1) ^[28]. Os sintomas de dor abdominal recorrente relacionada às evacuações, com alteração do formato ou da consistência das fezes devem estar presentes, no mínimo, uma vez por semana, nos últimos três meses, com duração mínima de 6 meses. Flatulência e distensão abdominal, quando presentes, também favorecem a suspeita clínica ^[29].

Critérios de ROMA IV para diagnóstico da Síndrome do Intestino Irritável

Dor abdominal recorrente (≥ 1 dia por semana, nos últimos 3 meses, com início 6 meses antes do diagnóstico) associada a 2 dos 3 critérios (sinais ou sintomas):

- Dor relacionada à evacuação
- Alteração do formato das fezes
- Alteração da frequência evacuatória

Figura 1 - Critérios de ROMA IV para diagnóstico da Síndrome do Intestino Irritável

A SII é classificada em quatro subtipos a depender da frequência e da forma das evacuações:

- SII com predomínio de diarreia (SII-D): fezes amolecidas ou pastosas em $\geq 25\%$ e fezes endurecidas ou ressecadas $< 25\%$ das evacuações;

- SII com predomínio de constipação (SII-C): fezes endurecidas ou ressecadas em $\geq 25\%$ e fezes amolecidas ou pastosas $< 25\%$ das evacuações;
- SII forma mista (SII-M): fezes endurecidas ou ressecadas $\geq 25\%$ e fezes amolecidas ou pastosas $\geq 25\%$ das evacuações;
- SII forma indeterminada: critérios insuficientes para inclusão do paciente em um dos grupos citados acima.

A escala visual de Bristol é uma ferramenta útil na prática clínica que facilita a classificação da SII em seus diferentes grupos (Figura 2). Os padrões de Bristol 1 e 2 estão relacionados à constipação, enquanto Bristol 5, 6 e 7 à diarreia.

Tipo 1		Pequenas, em bolotas e endurecidas
Tipo 2		Em forma de salsicha, embotada e endurecida
Tipo 3		Em forma de salsicha com rachaduras na sua superfície
Tipo 4		Em forma de salsicha ou cobra, lisa e amolecida
Tipo 5		Pedaços macios em gotas com margens bem delimitadas
Tipo 6		Pedaços macios irregulares, fezes amolecidas
Tipo 7		Aquosa, sem pedaços sólidos, inteiramente líquida

Figura 2 - Escala visual de Bristol

Alguns fatores de risco para SII são descritos na literatura como presença de dor abdominal funcional, abuso sexual na infância, transtorno de ansiedade com resposta anormal ao estresse, antecedente de cirurgia abdominal e diverticulite,

intolerância alimentar e infecção intestinal ^[30]. Dentre eles, o antecedente de infecção é o mais reconhecido como agente causal da SII-D e é descrito em até 20% dos casos ^[31]. Uma metanálise recente demonstrou risco aumentado em 6 vezes de SII-D após episódio de gastroenterocolite, seja bacteriana ou viral ^[32].

Os principais patógenos implicados diretamente na fisiopatologia da SII-D pós infecciosa são a *Escherichia coli*, *Samonella*, *Shigella* e o *Campylobacter jejuni* ^[33]. O aumento da permeabilidade intestinal causado pela infecção facilita a passagem antigênica do lúmen para a mucosa e dessa forma estimula a migração de linfócitos T, macrófagos e mastócitos com produção de IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, TNF, TGF- β e IFN- γ (Figura 3). Modelos animais também comprovam que a hipersensibilidade visceral responsável pela dor abdominal é diretamente modulada pelo grau de atividade inflamatória da mucosa ^[32, 34, 35].

* Células EC: Células enterocromafins

Fonte: Figura adaptada de Lee *et al.* Post-Infectious Irritable Bowel Syndrome ^[35].

Figura 3 - Fisiopatologia da Síndrome do Intestino Irritável pós-infecciosa

Alguns sinais alarme como idade avançada, anemia, sangramento anal, perda de peso não intencional e história familiar de câncer colorretal, quando presentes,

exigem investigação adicional para exclusão de outras afecções. Os consensos atuais não recomendam exames complementares para o diagnóstico de SII em pacientes de baixo risco. Porém, na prática o que se observa é a solicitação de exames como hemograma, PCR, sorologia para doença celíaca, teste de tolerância à lactose, protoparasitológico de fezes e calprotectina fecal, aumentando os custos para o sistema de saúde.

Estudo recente demonstrou risco inferior a 1% de DII em pacientes com sintomas de SII que apresentaram valores de PCR abaixo de 0,5 mg/dL e calprotectina fecal menor que 40 µg/g ^[36].

1.3 Sobreposição da Síndrome do Intestino Irritável em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais

A Síndrome do Intestino Irritável é um dos diagnósticos diferenciais mais prevalentes em portadores de Doenças Inflamatórias Intestinais que apresentam sintomas refratários e tem um impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes ^[37].

Como descrito anteriormente, a SII é de 3 a 5 vezes mais prevalente em pacientes portadores de DII quando comparados à população em geral. Coates *et al* observaram que aproximadamente 10% dos pacientes com DII em remissão endoscópica referem dor abdominal e 1/3 deles apresenta sintomas compatíveis com SII a despeito de remissão histológica ^[38].

Alguns autores sugerem que a SII e as DII fazem parte do mesmo espectro de doença. Um estudo avaliou o risco de se desenvolver DII naqueles com diagnóstico prévio de SII e comparou à população saudável. Nesta coorte retrospectiva com aproximadamente 10 mil pacientes, os indivíduos com SII exibiram um risco 9 vezes maior de progressão para DII quando comparados ao grupo controle. O tempo médio de diferença entre os dois diagnósticos foi de 2 anos ^[39].

As DII e a SII compartilham características clínicas, genéticas e de microbiota intestinal. Os sintomas de dor abdominal e diarreia são comumente

sobrepostos ^[38, 40]. Enquanto a presença de febre, sangramento nas fezes, aumento das provas de atividade inflamatória e lesões endoscópicas favorecem o diagnóstico de DII, os sintomas isolados de distensão abdominal ou alternância com constipação podem representar uma sobreposição com SII nestes pacientes. Esta diferenciação se torna mais difícil na Doença de Crohn de localização exclusiva em intestino delgado.

Além disso, comorbidades psiquiátricas são comuns a ambas as doenças. Abdalla *et al* relataram que os pacientes com a associação DII-SII apresentam maior associação com sintomas de ansiedade, depressão, fadiga e distúrbios do sono. Este grupo é também mais dependente de opioide para controle de dor ^[41-43].

Em relação à influência genética, mais de 200 loci de susceptibilidade foram identificados nas DII (NOD2/CARD15, IRGM, ATG16L1 e IL23R), porém poucos são os estudos na SII. Neste sentido, alguns trabalhos propuseram que polimorfismos no gene TNF-SF15 (membro 15 superfamília do Fator de Necrose Tumoral) estariam presentes tanto na Doença de Crohn quanto na SII ^[44].

Por último, uma publicação recente detectou prevalência de disbiose em 70% dos pacientes com DII virgens de tratamento e em 73% daqueles acompanhados por SII, comparados a 16% de voluntários saudáveis ^[45].

A hipótese mais aceita na atualidade é de que os pacientes com DII-SII exibem hiperresponsividade neuronal secundária à inflamação crônica com consequente dismotilidade, alteração da secreção intestinal, hiperalgesia, alodinea e hipersensibilidade visceral ^[46].

Vinikus-Nebot *et al* observaram que os sintomas de SII em pacientes com DII em remissão estavam associados com inflamação microscópica, aumento da permeabilidade intestinal, linfocitose intraepitelial e níveis elevados de TNF- α . Além disso, descreveram redução dos níveis de proteínas de adesão celular com zonulina e alfa-catenina ^[14]. Akbar *et al* demonstraram que os sintomas de SII eram secundários à inflamação da DII ao correlacionar os escores de dor abdominal com regulação positiva de receptores de sensibilidade visceral em pacientes com sobreposição DII-SII ^[47].

1.4 Associação entre SII e Supercrescimento Bacteriano em Intestino Delgado

Durante décadas a SII foi considerada uma doença intestinal funcional, sem fator etiológico definido e de origem psicogênica. Nos últimos anos a literatura tem demonstrado a importância da disbiose na sua fisiopatologia já que até 78% dos pacientes com SII apresentam sintomas relacionados ao supercrescimento bacteriano em intestino delgado (SBID) [48].

Shah *et al* publicaram uma metanálise que incluiu 25 estudos com 3192 indivíduos e calcularam a prevalência de SBID em pacientes com SII. Eles observaram uma razão de chances 4,9 (95% IC, 2,8-68,6) maior no grupo SII vs controles saudáveis [49].

O SBID é uma entidade clínica frequente caracterizada por hiperproliferação de bactérias colônicas no intestino delgado, fermentação excessiva de carboidratos da dieta e aumento da produção de gases como hidrogênio (H₂) e metano (CH₄). Classicamente o intestino delgado é colonizado por bactérias gram-positivas e aeróbias que variam em número de 10¹ a 10³ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL. No SBID observa-se um aumento do número de bactérias superior a 10³ UFC/mL em aspirado jejunal [50].

Os principais sintomas do SBID são dor abdominal, distensão, “bloating”, flatulência e alteração do hábito intestinal com constipação ou diarreia. Nas formas de apresentação graves os pacientes podem apresentar atrofia de vilosidades, má absorção intestinal, deficiência de vitaminas lipossolúveis, hipoalbuminemia e, eventualmente, perda de peso [51].

Diversas condições clínicas de dismotilidade intestinal estão associadas ao SBID como diabetes, esclerodermia, pancreatite crônica, cirurgia de desvio intestinal, pseudoobstrução intestinal, DII e SII [52]. Na SII, alguns fatores de risco têm sido relacionados à presença de SBID como sexo feminino, idade avançada, uso de inibidor de bomba de prótons e opioide, além de baixos níveis de hemoglobina [53, 54].

O método diagnóstico padrão-ouro é a cultura quantitativa do aspirado de intestino delgado. Entretanto, este teste é caro, invasivo e pouco disponível nos serviços de saúde. Na prática o diagnóstico de SBID é realizado através de testes respiratórios de H₂ expirado com substratos de glicose ou lactulose ^[55]. De acordo com o consenso norte-americano o resultado é considerado positivo caso a medida de hidrogênio expirado seja superior a 20 p.p.m. em qualquer momento durante o teste ou após 90 minutos ^[56].

O seu tratamento requer ciclos de antibioticoterapia e é, em geral, efetivo no controle de sintomas. Em uma metanálise publicada por Gatta *et al* com 1331 pacientes a taxa de erradicação do SBID foi de 70,8% (95% IC, 61,4-78,2%) quando tratados com rifaximina (não disponível no Brasil) ^[57].

1.5 Marcadores séricos da Síndrome do Intestino Irritável

1.5.1 Proteína C Reativa Ultrassensível (PCR)

A PCR é uma proteína produzida pelo fígado utilizada há décadas como marcador de fase aguda em diversas patologias. A sua dosagem é realizada de rotina no seguimento ambulatorial das DII por ser de baixo custo e amplamente disponível. Todavia, valores aumentados também são encontrados em episódios de infecção e em doenças autoimunes sistêmicas ^[58].

As principais limitações do uso da PCR são a baixa sensibilidade em pacientes com RCUI que em até 50% dos casos exibem valores normais, apesar da atividade de doença. Além disso, 15% dos indivíduos saudáveis não apresentam aumento dos seus níveis séricos por polimorfismo genético ^[58, 59].

1.5.2 Calprotectina fecal

A calprotectina fecal é uma proteína citosólica transportadora de cálcio e zinco, pertencente ao grupo S100, derivada predominantemente de neutrófilos e estável nas fezes em temperatura ambiente por até uma semana. A sua liberação

colônica reflete atividade inflamatória e, por este motivo, é atualmente o exame mais disponível e custo-efetivo no manejo das DII. Na literatura, a calprotectina tem sido estudada há mais de 10 anos e há evidência de que a calprotectina seja superior à dosagem da PCR e da velocidade de hemossedimentação (VHS) [60-62].

A cicatrização da mucosa intestinal é o objetivo terapêutico nas DII e tem sido relacionada a menores taxas de hospitalização, cirurgia, menor progressão para displasia e câncer. Geert D'Hans *et al* descreveram a boa correlação entre a calprotectina e inflamação endoscópica em 126 pacientes com DII e desde então ela tem sido utilizada como biomarcador intermediário adjuvante no manejo de pacientes com DII [63].

Outros trabalhos publicados demonstraram o papel da calprotectina em prever recidiva clínica em pacientes com DII inativa. Naismith *et al* demonstraram que resultado acima de 240 µg/g identifica maior chance de prever atividade da doença com sensibilidade de 80% e especificidade de 74,4% [64]. Calprotectina alterada também se mostrou superior quando comparada às alterações histológicas para avaliar recidiva da doença [65, 66].

Apesar de elevada sensibilidade, o uso da calprotectina na prática clínica ainda é controverso, principalmente quando se questiona o melhor momento do dia para coleta, sua frequência de dosagem no seguimento ambulatorial e o papel da variabilidade intra-individual. Apesar de muito sensível, a calprotectina é um marcador questionável na Doença de Crohn localizada no intestino delgado e quando os resultados se encontram na faixa entre 50 a 250 µg/g [67].

1.5.3 Anti- CdtB e Anti-vinculina

A Cytolethal distending toxin (CdtB) é uma toxina heterotrimérica comum à maioria dos patógenos gastrointestinais gram negativos, envolvida na patogenicidade bacteriana e persistência da infecção. É composta por três produtos genéticos *cdtA*, *cdtB* e *cdtC* (CdtABC), codificadas por um operon constituído por três genes com o mesmo nome. Cada variante contém um sítio de ligação ribossômica, que codifica proteínas com peso molecular de 30,1, 28,9 e 21,1 KDa, respectivamente. As três subunidades formam um complexo tripartite responsável pela ligação à membrana

plasmática. O CdtB é a subunidade que possui a DNase tipo I, que cause lesão do DNA de dupla hélice, levando à parada do ciclo celular na fase G2/M. Tal fato induz a distensão e senescência da célula e sua morte (Figura 4). Além disso, o CdtB possui atividade de fosfatidilinositol 3-4-5 trifosfato fosfatase (PIP3), que é capaz de induzir apoptose de células T [68, 69].

Dados experimentais documentaram que camundongos infectados com a cepa selvagem do *C. jejuni* apresentaram maior associação com fenótipos de SII-predomínio diarreia, alteração da microbiota intestinal e redução das células intersticiais de Cajal quando comparados à cepa mutada para a deleção do CdtB do *C. jejuni*, o que sugere o papel importante que o CdtB pode representar para a fisiopatologia da SII. Além disso, camundongos anti-CdtB positivos apresentaram mimetismo molecular e reação cruzada com a vinculina que é considerada uma proteína de adesão celular [70, 71].

Fonte: Figura adaptada de Lai *et al.* Molecular Mechanisms and Potential Clinical Applications of *Campylobacter jejuni* Cytolethal Distending Toxin [68].

Figura 4 - Mecanismo de patogenicidade celular do CdtB. O CdtA e CdtC se ligam à membrana celular por microdomínios de colesterol e facilitam a entrada do CdtB na

célula através das vesículas revestidas por clatrina. Após a endocitose, o CdtB translocado no citosol é internalizado no complexo de Golgi, retículo endoplasmático e núcleo. Por fim, a subunidade CdtB induz a quebra do DNA dupla hélice e a parada do ciclo celular.

A vinculina é uma proteína citoplasmática de 116 kDa, essencial para a embriogênese e responsável pela ligação indireta das caderinas aos filamentos de actina e ao domínio intracelular ^[72]. A integridade do epitélio intestinal depende das junções entre as células e a matriz extracelular por intermédio de complexos de proteínas transmembrana como as adesões focais, junções firmes e desmossomos. Evidências recentes sugerem o papel da vinculina no agrupamento entre integrinas e como um regulador de apoptose ^[71]. Possui múltiplas superfícies para recrutamento de proteínas de adesão celular. Além disso, estabiliza as integrina de adesão mediante o recrutamento de proteínas ligadas à actina, como por exemplo talina, assim como pela ligação direta de feixes de actina ^[72].

A vinculina é essencial para o mecanismo de patogenicidade dependente da adesão agentes infectantes como a *Giardia*. Um estudo prévio demonstrou que está presente no citoesqueleto da *Giardia*, sendo encontrada com maior abundância nas áreas de contato do parasito com o epitélio intestinal, o que sugere o papel da vinculina nos mecanismos de aderência ^[73].

Um estudo prévio validou os anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina em uma coorte de 2375 pacientes entre 18 e 65 anos, destes 142 eram portadores de DII, 121 pacientes celíacos e 43 indivíduos saudáveis. Os níveis séricos dos anticorpos foram determinados por ELISA e comparados entre os grupos. Títulos de anti-vinculina e anti-CdtB foram significativamente maiores nos pacientes com SII quando comparados ao grupo de DII, doença celíaca e indivíduos saudáveis. Neste estudo, níveis de anti-vinculina superiores à densidade óptica de 1,68 diferenciaram a SII-D das DII, com sensibilidade, especificidade e razão de verossimilhança positiva de 32,6%, 83,8% e 2,0, respectivamente. Enquanto valores de anti-CdtB acima de 2,8 representam sensibilidade, especificidade e razão de verossimilhança positiva de 43,7%, 91,6% e 5,2 ^[74].

Em estudo dos mesmo pesquisadores, usando anticorpos anti-CdtB de segunda geração, resultados de densidade óptica do anti-CdtB superiores a 1,56 diferenciaram SII-D de DII com sensibilidade de 43% e especificidade de 93,5%. Neste nível, 43% dos pacientes com SII-D apresentaram anticorpo positivo quando comparados a 6,5% nos controles ($p=0,001$) [75]. Dados subsequentes concluíram que estes marcadores foram úteis apenas para o diagnóstico de SII com predomínio de diarreia ou padrão misto, porém ineficaz para o diagnóstico de SII com predomínio de constipação [76].

Dessa forma, os autores determinaram a presença de dois anticorpos derivados da fisiopatologia da SII pós-infecciosa e, pela primeira vez, descreveram um fenômeno de autoimunidade na SII. O resultado positivo foi encontrado em 56% dos pacientes com SII-D e suficiente para definir o diagnóstico, sem necessidade de exames complementares adicionais. O diagnóstico de SII por sua vez deixaria de ser considerado de exclusão e sim de inclusão [74, 77].

Pimentel *et al* também publicaram uma análise de redução de custos para o diagnóstico de SII-D ao se substituir a realização de exames complementares como colonoscopia ou tomografia pela dosagem dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina. Os autores calcularam uma economia de 509 dólares por paciente, além de redução de complicações inerentes aos procedimentos invasivos [78].

1.6 Justificativa do estudo

O fato de ambas as doenças se apresentarem de forma crônica e com sintomas semelhantes gera potencial de confusão e erro diagnóstico frequente. Atualmente o diagnóstico de SII é realizado apenas através dos critérios de ROMA IV. Os estudos publicados na literatura validaram o uso do anti-CdtB e da anti-vinculina na diferenciação entre SII-D e DII, porém não existe evidência se a positividade destes anticorpos confirmaria a sobreposição DII-SII em pacientes com DII.

Dessa forma, a identificação correta do subgrupo de pacientes com DII-SII é fundamental para racionalizar os recursos empregados em exames laboratoriais, radiológicos e endoscópicos invasivos, além de otimizar o tratamento clínico destinado às Doenças Inflamatórias Intestinais. Considerando que os sintomas da SII têm sido atribuídos à presença de supercrescimento bacteriano de intestino delgado, torna-se relevante conhecer a prevalência dessa condição em pacientes de SII-D.

2. OBJETIVO

2 OBJETIVO

O objetivo principal do presente trabalho é avaliar a aplicabilidade clínica e o desempenho dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais que se apresentam com persistência da diarreia.

O objetivo secundário é observar a prevalência de supercrescimento bacteriano na população de pacientes portadores de Síndrome do Intestino Irritável com predomínio de diarreia.

3. MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Estudo observacional, prospectivo, unicêntrico em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais que se apresentam com sintomas persistentes de dor abdominal e diarreia, realizado de acordo com o *STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration* ^[79, 80].

3.2 Casuística

3.2.1 Período e local do estudo

Foram incluídos pacientes da Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, internados ou ambulatoriais, que preenchiam os critérios de elegibilidade entre o período de maio de 2018 até janeiro de 2019. Foram recrutados pacientes que referiam número superior a 3 evacuações ao dia, com indicação de colonoscopia e que concordavam em participar do estudo. A coleta dos exames laboratoriais foi realizada no dia da consulta ou antes da realização da colonoscopia.

Os pacientes que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, preencheram os questionários sobre dados sócio-demográficos, de atividade clínica da Doença de Crohn (Índice de Harvey-Bradshaw) e da Retocolite Ulcerativa (Escore de Mayo Modificado), para preenchimento dos critérios de ROMA IV para diagnóstico de SII.

3.2.2 Critérios de inclusão

- a. Idade superior a 18 anos
- b. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- c. Diagnóstico de DII comprometendo o íleo terminal e/ou o cólon estabelecido há, pelo menos, 6 meses e indicação clínica de repetir colonoscopia
- d. Diagnóstico de SII-D
- e. Indivíduos assintomáticos em programa de rastreamento de câncer colorretal

3.2.3 Critérios de exclusão

- a. Neoplasia atual ou prévia
- b. Sorologia positiva para HIV
- c. Doença de Crohn com fístulas enterocutâneas
- d. Pacientes com outras doenças intestinais como doença celíaca ou colite microscópica
- e. Antecedente de cirurgia abdominal ou pélvica, exceto operações na parede abdominal
- f. Uso de corticoterapia por qualquer motivo há, pelo menos, 6 meses anteriores à inclusão no estudo

3.3 Critérios diagnósticos e determinação dos grupos

O diagnóstico de DII foi realizado de forma ambulatorial através da história clínica, de provas de atividade inflamatória (PCR, calprotectina fecal), de exames radiológicos e de colonoscopia com biópsias seriadas.

Os pacientes incluídos foram alocados em 4 grupos:

3.3.1 Grupo 1: Doenças Inflamatórias Intestinais em atividade clínica, laboratorial e endoscópica

Diagnóstico de Doença de Crohn ou Retocolite Ulcerativa estabelecido pela combinação de achados clínicos, laboratoriais, radiológicos e/ou endoscópicos.

- Atividade clínica, laboratorial e endoscópica definidas pela presença de sintomas (dor abdominal, diarreia mucossanguinolenta ou perda de peso), atividade laboratorial (anemia, ferropenia, hipoalbuminemia, aumento de PCR e aumento de calprotectina fecal) e/ou atividade endoscópica (erosões e úlceras detectadas na colonoscopia).

3.3.2 Grupo 2: Doenças Inflamatórias Intestinais com persistência da diarreia, porém em remissão endoscópica (DII-SII)

Diagnóstico de Doença de Crohn ou Retocolite Ulcerativa estabelecido pela combinação de achados clínicos, laboratoriais, radiológicos e/ou endoscópicos.

- Doença de Crohn: Remissão profunda definida por avaliação médica subjetiva (anamnese e exame físico), Índice de Harvey-Bradshaw, dosagem de PCR inferior a 5 mg/dL, calprotectina fecal inferior a 250 µg/g, colonoscopia com escore SES-CD inferior a 2.
- Retocolite Ulcerativa: Remissão profunda definida por avaliação médica subjetiva (anamnese e exame físico), Índice clínico de Mayo simplificado de 0 ou 1, dosagem PCR inferior a 5 mg/dL, calprotectina fecal inferior a 250 µg/g, colonoscopia com escore de Mayo 0.

3.3.3 Grupo 3: Síndrome do Intestino Irritável com predomínio de diarreia

Diagnóstico de SII-D realizado de forma clínica por meio do critério ROMA IV e por exclusão de outras doenças como parasitoses intestinais, intolerância à lactose, doença celíaca, imunodeficiência comum variável e colite microscópica. Todos os pacientes apresentaram hemograma e PCR normais, anti-transglutaminase

IgA negativo, colonoscopia com biopsias seriadas normais, calprotectina fecal inferior a 50 mcg/g.

3.3.4 Grupo 4: Indivíduos saudáveis em programa de rastreamento de câncer colorretal

Voluntários completamente assintomáticos sob o ponto de vista gastrointestinal foram recrutados dentre os participantes do programa de rastreamento do câncer colorretal. Ao aceitaram participar do estudo, constituíram o grupo controle.

3.4 Avaliação da atividade da doença na DII

3.4.1 Avaliação da atividade clínica

Todos os pacientes foram entrevistados e submetidos a exame físico. Foram coletados dados sócio-demográficos: nome, idade, sexo, escolaridade, renda familiar, antecedente atual ou prévio de tabagismo, história familiar de DII ou SII. Além disso, também foram registradas as informações referentes à localização e comportamento da Doença Inflamatória Intestinal de acordo com a classificação de Montreal, medicações em uso atual e pregresso.

3.4.2 Avaliação laboratorial

Na rotina assistencial da Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia, a investigação diagnóstica de pacientes com sintomas gastrointestinais, solicitada pelo médico assistente do paciente, compreende os seguintes exames complementares: hemograma, PCR, ferro sérico, saturação de transferrina, ferritina, ácido fólico, vitamina B12, proteínas totais e frações, transaminases, sorologia para HIV, protoparasitológico de fezes e dosagem de calprotectina fecal.

No presente estudo, esses resultados foram consultados com o objetivo de estratificar os grupos de DII de acordo com a presença de atividade inflamatória laboratorial.

3.4.3 Colonoscopia

Todos os pacientes do estudo foram submetidos à colonoscopia com biópsias. A inclusão dos pacientes dos grupos de DII e controles saudáveis foi realizada no momento da colonoscopia. Para o grupo SII-D, utilizamos o resultado de colonoscopia prévia do paciente.

3.4.4 Teste respiratório para supercrescimento bacteriano

Este exame utiliza a medida de gases no ar expirado para avaliar o grau de fermentação bacteriana do intestino delgado. Os pacientes recebem lactulose por via oral, que é metabolizada pela flora intestinal e convertida nos gases H₂ e CH₄. No presente estudo, as amostras foram imediatamente analisadas em equipamento de cromatografia gasosa - Quintron modelo CM2 ou modelo 12i (Quintron Instrument Company, Milwaukee, WI, EUA) e a concentração do H₂ obtida expressa em partes por milhão (p.p.m.). O resultado foi considerado positivo quando houvesse pico precoce de H₂ de 20 p.p.m. maior que o basal em até 80 minutos.

3.4.5 Coleta de amostras de sangue

As amostras de sangue foram coletadas no dia da inclusão do paciente no estudo, ou imediatamente antes da colonoscopia. Foram coletados 20 ml de sangue venoso de cada paciente por punção de veia periférica com escalpe a vácuo de 21G. As amostras foram centrifugadas a 4°C por 10 minutos em rotação de 1.3 rpm, e, em seguida, o plasma foi pipetado e armazenado congelado em - 80°C.

3.4.6 Pesquisa dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina

A análise dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina foi realizada por ELISA indireto. Em resumo, utilizamos albumina bovina a 3% dissolvida em solução de fosfato tamponada e usada para bloqueio dos sítios de ligação da placa de ELISA. Após incubação com o plasma dos pacientes, a reação entre o anticorpo secundário conjugado com peroxidase e o substrato 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) foi usada para detecção dos anticorpos primários. A leitura das densidades ópticas foi efetuada após 70 minutos com comprimento de onda de 370 nm.

O transporte das amostras foi realizado por uma empresa terceirizada (World Courier) e obedeceu a regulamentação brasileira exigida pela ANVISA e norte-americana do CDC. Todas as dosagens foram analisadas no Laboratório MAST (Medically Associated Science and Technology Program) do Hospital Cedars Sinai em Los Angeles, Estados Unidos. Este laboratório foi escolhido pela expertise com o método, sendo detentor da patente dos anticorpos.

3.5 Análise estatística

3.5.1 Cálculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado considerando as medidas de acurácia diagnóstica dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina publicadas por Pimentel *et al* ^[74], de modo para contemplar a futura realização do teste de one-way ANOVA, com 4 grupos. A amostra foi estimada em 45 indivíduos em cada grupo. Os parâmetros utilizados foram alpha 0.05, beta 0.80 e 0.90, e $f=0.25$ (que representa um efeito médio de tamanho). Foi utilizado o comando "pwr.anova.test" do pacote "pwr" do software R (<http://r-project.org/>).

3.5.2 Análise de dados

As variáveis qualitativas foram expressas pela frequência absoluta (n) e relativa (%). As variáveis quantitativas pela média e desvio padrão.

Para verificar associação nas variáveis qualitativas utilizamos o teste exato de Fisher. Foram utilizados o teste t-Student ou Mann-Whitney para comparação entre dois grupos das variáveis quantitativas, dependendo da suposição de normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação de mais de dois grupos foi realizada pelos testes ANOVA (paramétrico) ou Kruskal-Wallis (não paramétrico).

O nível de significância adotado foi de 5%.

3.6 Aspectos éticos

O estudo foi conduzido de acordo com os requerimentos da Declaração de Helsinki e do Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPESQ), projeto número 2.727.928 (Anexo A). Todos os participantes foram voluntários e incluídos após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4. RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Foram incluídos 160 pacientes distribuídos nos seguintes grupos:

Grupo 1: 44 pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais em atividade clínica, laboratorial e endoscópica.

Grupo 2: 25 pacientes no grupo de Doenças Inflamatórias Intestinais em remissão endoscópica.

Grupo 3: 45 pacientes no grupo de Síndrome do Intestino Irritável com predomínio de diarreia.

Grupo 4: 46 indivíduos saudáveis no grupo controle.

A Figura 3 demonstra o fluxograma dos pacientes incluídos.

Figura 5 - Fluxograma de inclusões

No grupo 1, dos pacientes com Doença de Crohn 78% apresentavam atividade clínica leve, 16% atividade moderada e 7% grave. Enquanto que os pacientes com RCU 25% apresentavam atividade leve, 75% moderada e nenhum paciente tinha atividade grave.

Observamos que a média de idade dos grupos 1, 2, 3 e 4 foi respectivamente de 39,5 anos, 46,5 anos, 39,5 anos e 56,6 anos. Em relação ao gênero, houve predomínio do sexo feminino em 105 pacientes (65,6%), como demonstrado na Tabela 1.

A raça branca foi a mais prevalente entre a população do estudo em 96 indivíduos (60,4%). Na nossa amostra, 114 (71%) pacientes referiram formação escolar com ensino médio completo ou nível superior. Enquanto 49 (31,6%) pacientes declararam renda familiar de até 2 salários mínimos.

Tabela 1 - Características gerais da população do estudo

Variável	Grupo										p-valor
	Geral		DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica		SII-D		Controle		
Idade	45,6 ± 15,3		39,7 ± 14,1		45,7 ± 14,6		40,0 ± 14,5		56,6 ± 11,6		0,0001
IMC	24,6 ± 4,6		22,9 ± 4,9		24,7 ± 3,5		23,9 ± 4,6		26,9 ± 3,8		0,0001
Tabagismo Atual											
Sim	9	5,6%	2	4,5%	1	3,8%	2	4,5%	4	8,7%	0,8152
Sexo											
F	105	65,6%	20	45,5%	18	69,2%	34	77,3%	33	71,7%	0,0124
Etnia											
Branca	97	60,6%	26	59,1%	17	65,4%	34	77,3%	20	43,5%	0,0752
Preta	18	11,3%	4	9,1%	2	7,7%	3	6,8%	9	19,6%	
Amarela	1	0,6%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	2,2%	
Parda	44	27,5%	14	31,8%	7	26,9%	7	15,9%	16	34,8%	
Escolaridade											
Analfabeto	1	0,6%	1	2,3%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0,0020
Ensino Fundamental incompleto	16	10,1%	2	4,5%	2	7,7%	7	16,3%	5	10,9%	
Ensino Fundamental completo	21	13,2%	7	15,9%	3	11,5%	1	2,3%	10	21,7%	
Ensino Médio incompleto	7	4,4%	2	4,5%	1	3,8%	0	0,0%	4	8,7%	
Ensino Médio completo	54	34,0%	16	36,4%	10	38,5%	9	20,9%	19	41,3%	
Ensino Superior completo	60	37,7%	16	36,4%	10	38,5%	26	60,5%	8	17,4%	
Renda Familiar											
até 2 salário mínimos	50	31,6%	13	29,5%	12	48,0%	11	25,6%	14	30,4%	0,0090
de 5 a 10 salários mínimos	26	16,5%	4	9,1%	2	8,0%	13	30,2%	7	15,2%	
de 10 a 15 salários mínimos	4	2,5%	1	2,3%	1	4,0%	2	4,7%	0	0,0%	
de 15 a 20 salários mínimos	2	1,3%	1	2,3%	0	0,0%	1	2,3%	0	0,0%	
mais de 20 salários mínimos	1	0,6%	0	0,0%	0	0,0%	1	2,3%	0	0,0%	
Afastado	41	25,9%	12	27,3%	3	12,0%	6	14,0%	20	43,5%	
Desempregado	34	21,5%	13	29,5%	7	28,0%	9	20,9%	5	10,9%	

Observamos que no grupo dos pacientes com DII em atividade endoscópica 52,3% tinham diagnóstico de RCU, enquanto no grupo DII em remissão endoscópica 75% dos indivíduos eram portadores de RCU. O p-valor foi igual a 0,0766 e não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Estratificação dos pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais

Diagnóstico	Grupo				Total	
	DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica			
DC	21	47,7%	7	28,0%	28	40,6%
RCUI	23	52,3%	18	72,0%	41	59,4%
Total	44	100,0%	25	100,0%	69	100,0%

Resultados expressos como N e percentual.
p-valor = 0,1316

A Tabela 3 mostra a localização da DC dos pacientes incluídos nos grupos de DII em atividade e remissão endoscópica. A doença era ileocolônica em 70,6% dos pacientes do grupo 1 e em 40% dos casos do grupo 2. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Tabela 3 - Localização da DC de acordo com os grupos de DII

Localização da doença	Grupo				Total	
	DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica			
Ileal	0	0,0%	2	40,0%	2	9,1%
Colônica	5	29,4%	1	20,0%	6	27,3%
Ileocolônica	12	70,6%	2	40,0%	14	63,6%
Total	17	100,0%	5	100,0%	22	100,0%

Resultados expressos como N e percentual.
p-valor = 0,0515

Observamos que dos pacientes com DII em atividade endoscópica 63,6% apresentavam pancolite de acordo com a classificação de Montreal, já no grupo com DII em remissão endoscópica temos 36,4%. O p-valor foi igual a 0,1392 (Tabela 4). Assim temos que não há associação estatisticamente significativa entre as variáveis.

Tabela 4 - Localização da DC de acordo com os grupos de DII

Montreal RCUI	Grupo				Total	
	DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica			
Proctite	1	4,5%	3	27,3%	4	12,1%
Colite Esquerda	7	31,8%	4	36,4%	11	33,3%
Pancolite	14	63,6%	4	36,4%	18	54,5%
Total	22	100,0%	11	100,0%	33	100,0%

Resultados expressos como N e percentual.
p-valor = 0,1392

Os resultados laboratoriais basais dos pacientes com DII são descritos na Tabela 5. Conforme esperado, os pacientes incluídos no grupo de SII-D apresentavam hemograma normal e provas de atividade inflamatória sem alterações.

Tabela 5 - Resultados laboratoriais dos pacientes com DII

Variável	Geral	DII em atividade endoscópica	DII em remissão endoscópica	p-valor
Hemoglobina (g/dL)	13,3 ± 1,5	13,2 ± 1,7	13,7 ± 1,2	0,4465
Leucócitos (mil/mm ³)	6905 ± 2260,1	7431,1 ± 2438,7	6419,5 ± 2081,9	0,1795
Plaquetas (mil/mm ³)	283,2 ± 106,6	298,8 ± 130,9	271,3 ± 67,4	0,5158
PCR (mg/L)	8,7 ± 14,6	13,4 ± 18,4	2,8 ± 3,6	0,0014
Ferro Sérico (µg/dL)	81,5 ± 33,8	67,7 ± 26,9	100,7 ± 35,6	0,0008
Sat de Transf (%)	27,3 ± 11,2	23,7 ± 9,5	34 ± 12,6	0,0074
Ferritina (ng/mL)	157 ± 219,9	189,9 ± 284,8	142,2 ± 101,3	0,7433
Vitamina D (ng / mL)	25,9 ± 11,2	24,8 ± 11,6	29,1 ± 11	0,1169
Ácido Fólico (ng/ml)	10,8 ± 4,8	9,7 ± 4,8	12,2 ± 5,2	0,0851
Vitamina B12 (pg/mL)	557,6 ± 256,1	538,4 ± 168,9	659,7 ± 404,1	0,5448

4.2 Resultados do anti-CdtB e anti-vinculina

A média do anticorpo anti-CdtB aferida por densidade óptica foi de $0,71 \pm 0,48$ no grupo 1 (DII em atividade), $0,71 \pm 0,43$ no grupo 2 (DII em remissão / DII-SII), $0,70 \pm 0,44$ no grupo 3 (SII-D) e $0,85 \pm 0,72$ no grupo controle (Tabela 6). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,95$).

Os pacientes que apresentavam DII-SII tiveram uma tendência de maiores valores de anti-vinculina $1,68 \pm 1,04$ quando comparados aos pacientes com DII em atividade $1,50 \pm 0,94$, SII-D $1,50 \pm 0,94$ e controles $1,63 \pm 0,9$, sem significância estatística ($p= 0,76$).

Quando considerado o ponto de corte descrito na literatura de 1,56 para anti-CdtB a frequência de resultados positivos foi de 3 (6,6%) no grupo 1, 0 no grupo 2, 3 (6,6%) no grupo 3 e 5 (10,8%) nos controles (Tabela 9).

Em relação à distribuição de frequência de anti-vinculina entre os grupos quando considerado 1,6 como ponto de corte os resultados foram os seguintes: 21 (27,7%) no grupo 1, 12 (48%) no grupo 2, 19 (42,2%) no grupo 3 e 23 (50%) nos controles (Tabela 10). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Houve tendência de valores mais elevados de anticorpos anti-vinculina no grupo 2, porém sem significância estatística.

Tabela 6 - Valores de densidade óptica dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina de acordo com os grupos de estudo

Anticorpo	DII em atividade endoscópica	DII em remissão endoscópica	SII- D	Controles	p
Anti-CdtB	$0,71 \pm 0,48$	$0,71 \pm 0,43$	$0,71 \pm 0,43$	$0,85 \pm 0,72$	0,95
Anti-vinculina	$1,5 \pm 0,81$	$1,68 \pm 1,04$	$1,50 \pm 0,94$	$1,63 \pm 0,9$	0,76

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

Tabela 7 - Valores de densidade óptica dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina entre os grupos de DII

Anticorpo	DII em atividade endoscópica	DII em remissão endoscópica	p
Anti-CdtB	0,71± 0,48	0,71 ± 0,43	0,9177
Anti-vinculina	1,5 ± 0,81	1,68 ± 1,04	0,3431

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Figuras 6 e 7 - Valores de densidade óptica do anti-CdtB entre os grupos do estudo

Figura 8 e 9 - Valores de densidade óptica do anti-vinculina entre os grupos do estudo

Tabela 8 - Positividade do anti-CdtB entre os grupos do estudo

Anti-CdtB	Grupo								Total	
	DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica		SII-D		Controle			
<=1.56	41	93,2%	26	100,0%	41	93,2%	41	89,1%	149	93,1%
>1.56	3	6,8%	0	0,0%	3	6,8%	5	10,9%	11	6,9%
Total	44	100,0%	26	100,0%	44	100,0%	46	100,0%	160	100,0%

Resultados expressos como N e percentual.
p-valor = 0,4370

Tabela 9 - Positividade do anti-vinculina entre os grupos do estudo

Anti- vinculina	Grupo								Total	
	DII em atividade endoscópica		DII em remissão endoscópica		SII		Controle			
<=1.6	23	52,3%	13	50,0%	26	59,1%	23	50,0%	85	53,1%
>1.6	21	47,7%	13	50,0%	18	40,9%	23	50,0%	75	46,9%
Total	44	100,0%	26	100,0%	44	100,0%	46	100,0%	160	100,0%

Resultados expressos como N e percentual.
p-valor = 0,8209

Dentre os 45 pacientes com Síndrome do Intestino Irritável com predomínio de diarreia incluídos, 31 realizaram o teste respiratório para detecção de supercrescimento bacteriano. Destes, 18 pacientes apresentaram teste positivo (58,06%) e em 13 (41,9%) pacientes o resultado foi negativo. Os demais pacientes (n= 14) não estavam disponíveis para realizar o exame. É interessante observar que este teste exige um preparo dietético rigoroso e demanda o tempo aproximado de 180 minutos para cada indivíduo.

Não houve correlação entre os valores dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina com os resultados em p.p.m. do teste respiratório para supercrescimento bacteriano conforme apresentado nas Figuras 8 e 9. Do mesmo modo, não foi observada correlação entre variáveis sócio-econômicas, valores dos anticorpos e do teste respiratório.

Tabela 10 - Correlação entre os valores de anti-CdtB e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano

Variável	p.p.m.	
	rho	p-valor
Anti-CdtB	0,0277	0,8843
Anti-vinculina	0,2159	0,2519

Figura 10 - Correlação entre os valores de anti-CdtB e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano

Figura 11 - Correlação entre os valores de anti-vinculina e resultado máximo do teste respiratório para supercrescimento bacteriano

5. DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

5.1 Desempenho dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para o diagnóstico de SII em pacientes com DII

Em pacientes com DII a frequência de SII é 4 vezes maior em relação à população em geral. Os critérios de ROMA IV, apesar de validados para o diagnóstico de SII, apresentam baixa acurácia quando aplicados na sobreposição DII-SII, havendo espaço na literatura para novos métodos diagnósticos. De fato, nos últimos anos, alguns biomarcadores têm sido descritos com o objetivo de facilitar o diagnóstico da SII [81, 82]. Em 2015, Pimentel *et al* validaram os anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina a partir do conhecimento da SII pós-infecciosa, em especial, o anticorpo anti-CdtB, que foi desenvolvido a partir da proteína CdtB, produzida por bactérias como *Escherichia coli*, *Samonella*, *Shigella* e *Campylobacter jejuni* em decorrência de uma infecção gastrointestinal [74]. Desde então, estes testes têm sido utilizados nos Estados Unidos no algoritmo diagnóstico de diarreia crônica sem sinais de alarme. Entretanto, esses anticorpos não foram avaliados na sobreposição DII-SII.

No presente estudo prospectivo, conduzido em colaboração com o Hospital Cedars Sinai (Dr. Mark Pimentel) avaliamos a aplicabilidade clínica dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnosticar SII-D em pacientes com DII. Considerando que são anticorpos dirigidos contra epítomos de origem microbiana, fizemos a hipótese de que a acurácia desses biomarcadores poderia ser influenciada pela prevalência elevada de patógenos intestinais em países como o Brasil. Desenhamos o estudo para comparar pacientes com DII (com e sem atividade endoscópica) com pacientes com SII e controles sadios, sem doença gastrointestinal.

Até onde sabemos, este é o primeiro trabalho que analisou os anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina em pacientes com SII-D e DII. É importante ressaltar que o nosso estudo foi também o primeiro na literatura que avaliou o comportamento dos anticorpos de acordo com a estratificação da presença de atividade inflamatória endoscópica nos pacientes com DII.

O principal achado do nosso trabalho é que não houve diferença estatisticamente significativa dos títulos dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina entre os pacientes com DII em atividade endoscópica (grupo 1), DII em remissão endoscópica (grupo 2), SII com predomínio de diarreia (grupo 3) e controles saudáveis (grupo 4). Apesar de não observarmos associação significativa, houve tendência a valores mais elevados de anti-vinculina no grupo 2 quando comparado aos demais grupos.

As médias de densidade óptica do anti-CdtB foram 0,71, semelhantes entre os grupos 1, 2 e 3, enquanto o grupo 4 apresentou média de 0,85. Esta diferença não alcançou significância estatística. Quando consideramos o ponto de corte de 1,56, validado na literatura, encontramos positividade de 6,8% no grupo 1, 0% no grupo 2, 6,8% no grupo 3 e 10,9% no grupo 4. Nenhum paciente do grupo de DII em remissão endoscópica (grupo 2) apresentou anti-CdtB positivo. Maior percentual de testes positivos foi encontrado no grupo controle saudáveis.

Em relação ao anti-vinculina, identificamos médias de densidade óptica mais elevadas nos 4 grupos do estudo: 1,5 no grupo 1; 1,68 no grupo 2; 1,5 no grupo 3; 1,63 no grupo 4. Quando definimos o ponto de corte de 1,6 conforme estabeleceu o artigo original de Pimentel *et al*, 47,7% dos pacientes do grupo 1 foram positivos para o anti-vinculina, 50% do grupo 2, 40,9% do grupo 3 e 50% do grupo 4.

Dessa forma, os resultados do presente trabalho foram discordantes daqueles observados no estudo original^[74] e algumas hipóteses são levantadas para argumentar tal achado.

Pimentel *et al* validaram os anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina de forma multicêntrica entre 2.681 pacientes em 180 hospitais dos Estados Unidos. O objetivo principal era avaliar a acurácia destes marcadores em uma coorte de indivíduos diagnosticados com SII-D, de acordo com os critérios de ROMA IV, e compará-los a indivíduos com DII, doença celíaca e controles saudáveis^[74]. Recentemente, estes autores publicaram um estudo com melhores resultados de sensibilidade e especificidade ao utilizar anticorpos de segunda geração e estabilização do antígeno de CdtB na placa de ELISA. Analisaram de forma retrospectiva amostras de 100 pacientes com SII-D e 31 pacientes com DII em atividade endoscópica. A

sensibilidade e especificidade do anti-CdtB e do anti-vinculina foram de 43% e 52,2%; 93,5% e 90,9%^[75].

De forma semelhante aos estudos de validação, no nosso trabalho foram utilizados anticorpos de segunda geração e os grupos foram divididos entre SII-D, DII e indivíduos sadios. Não foram incluídos pacientes com doença celíaca. Entretanto, um aspecto importante a se considerar é que a população com DII aqui estudada foi diferente daquela do trabalho original. O presente estudo foi realizado em um único centro de referência, de atenção quaternária, com pacientes mais graves. Dessa forma, a quase totalidade do grupo DII foi formada por pacientes tratados com imunossupressores ou agentes biológicos. No estudo original, os pacientes com DII se encontravam em remissão clínica e não utilizavam imunossupressores. Apesar dos pacientes estarem sem utilizar esteroides há pelo menos 6 meses, terapia que sabidamente reduz a produção de anticorpos, podemos especular se os resultados de densidade óptica de ambos os anticorpos foram menores em decorrência do uso de outras drogas imunossupressoras, como a azatioprina. Em linha com essa possibilidade, tem-se demonstrado que esses agentes podem reduzir o nível de anticorpos contra biológicos e teoricamente de outros anticorpos^[83].

Um segundo ponto de diferença foi o tempo de doença dos pacientes com DII. No nosso estudo, tanto o grupo de DII em atividade (grupo 1) quanto o DII em remissão (grupo 2) apresentavam doença de longa data. Klem *et al* realizaram uma metanálise e incluíram 45 estudos prospectivos de SII pós-infecciosa. Os autores calcularam uma incidência de 10,1% em 3 meses pós infecção e de 14,5% após 1 ano do episódio de gastroenterocolite. Nesse trabalho, o risco de SII pós-infecciosa foi 4,2 vezes maior em indivíduos que apresentaram infecção intestinal em relação aos que não tiveram esse antecedente^[84]. Não sabemos, por exemplo, como os anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina se comportariam caso identificássemos um fator infeccioso precipitante para a diarreia antes da inclusão do paciente no estudo.

Scallan Walter *et al*, por exemplo, calcularam uma incidência anual de SII pós infecção por *Campylobacter jejuni* de 16,7 em 1000 indivíduos comparada a 3,9 em 1000 nos controles. O risco relativo neste estudo foi de 4,3% (95% IC 3,0-6,2)

[85]. Contudo, no Brasil os dados de prevalência de SII-D pós-infecciosa e seus patógenos mais frequentes são escassos.

Em 2018, Veras *et al* avaliaram os genes de virulência do *Campylobacter jejuni* e biomarcadores infamatórios em um estudo de caso-controle com 340 crianças no Brasil. Foram extraídas amostras de DNA fecal e avaliaram a frequência de exposição ao *C. jejuni* através de técnica molecular de reação em cadeia de polimerase. A prevalência do *C. jejuni* nessa população foi de 9,7% e os genes mais expressos foram *cadF*, *iamA*, *cheW* e *sodB*. A expressão do gene *CdtB* foi encontrada em apenas 15,2% da amostra. Ademais, os autores observaram que crianças desnutridas apresentavam maiores taxas de infecção por cepas de *C. jejuni* que não expressavam o gene *CdtB* [86].

No nosso trabalho, poderíamos justificar os baixos títulos de anti-CdtB encontrados por este motivo. A infecção pelo *Campylobacter* é considerada uma das causas mais frequentes de gastroenterite bacteriana no mundo, com perfis epidemiológicos distintos entre países desenvolvidos e em desenvolvimento. Nos primeiros, a prevalência é baixa e há sazonalidade e episódios de surtos. Nos segundos, a infecção é endêmica, comumente assintomática e raramente sazonal [87]. Todavia, as cepas de *Campylobacter* encontradas no Brasil, em sua maioria, não expressaram a proteína CdtB em quase 85% dos casos [86]. Tal fato poderia contribuir para a negatividade dos resultados no presente estudo.

Uma forma de corrigir este viés teria sido ajustar os resultados do anti-CdtB em função da prevalência da infecção por cepas *Campylobacter* de diferentes potenciais de patogenicidade na população brasileira, o que não foi possível neste momento devido à necessidade de um número amostral maior e à limitação de recursos financeiros.

No que se refere ao anticorpo anti-vinculina, no presente estudo foram observados valores de densidade óptica e positividade superiores aos descritos na literatura. Vale ressaltar que este anticorpo foi inicialmente identificado através de mimetismo molecular e de reação cruzada com o anticorpo anti-CdtB [71]. Há de se considerar a possibilidade de resultados falso-positivos na presença de outros autoanticorpos aqui não avaliados.

Um estudo experimental de Narcisi *et al* demonstrou a presença da vinculina no citoesqueleto da *Giardia duodenalis* através da técnica de Western Blot e reforçou a sua importância no mecanismo de adesão celular ^[73]. A giardíase é uma infecção intestinal que acomete cerca de 280 milhões de indivíduos ao ano. No Estado de São Paulo estima-se uma prevalência de giardíase em 30% da população ^[88]. Eventualmente, os nossos achados positivos de anti-vinculina entre os quatro grupos incluídos poderiam ser atribuídos à alta prevalência de giardíase no Brasil e talvez também decorram de uma reação cruzada.

Na literatura, alguns trabalhos analisaram o comportamento dos anticorpos em populações distintas da norte-americana incluída no estudo de validação. Schmulson *et al* avaliaram o desempenho do anti-CdtB e anti-vinculina em pacientes mexicanos com diarreia crônica ^[89]. Foram incluídos 30 pacientes com SII-D, SII-M, diarreia funcional, colite microscópica e espru tropical entre 2015 e 2016. A positividade dos anticorpos entre os pacientes com SII-D foi de 55% e estes resultados foram semelhantes aos do estudo original descrito por Pimentel *et al* (58,6%) ^[74].

Neste estudo, um indivíduo com síndrome de supercrescimento bacteriano secundária à diverticulose duodenal apresentou anticorpo anti-CdtB positivo ^[89]. Os autores discutiram se a positividade do anti-CdtB estaria relacionada à redução das células intersticiais de Kajal, à dismotilidade intestinal ou à reação cruzada com a vinculina. As limitações deste trabalho são o pequeno número amostral e a ausência de padronização no diagnóstico de diarreia crônica entre os indivíduos incluídos. Como não foram incluídos pacientes com DII, torna-se impossível a análise comparativa com os nossos resultados.

Na Austrália, Talley *et al* avaliaram o papel diagnóstico dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina entre indivíduos com SII (n=319), dispepsia funcional (n=116) e controles saudáveis (n=246) ^[90]. Levando-se em conta os objetivos distintos do nosso estudo, os autores não encontraram diferença estatisticamente significativa dos valores de anti-CdtB e anti-vinculina entre o grupo SII e controles sadios. Entretanto, as médias de densidade óptica do anti-CdtB foram maiores entre pacientes com SII em relação aos controles (2,36 x 2,14, p=0,06). O principal viés deste trabalho foi

não ter incluído um espectro maior de causas de diarreia crônica, como pacientes com DII e doença celíaca.

Além disso, foram descritas algumas diferenças metodológicas em relação ao estudo de Pimentel *et al* ^[74]. Primeiro, o diagnóstico de SII foi baseado na avaliação clínica subjetiva e não seguiu os critérios de ROMA IV como os consensos atuais preconizam. Depois, Talley *et al* utilizaram soro ao invés de plasma sanguíneo para a dosagem dos anticorpos, de forma diferente do nosso trabalho ^[90].

O nosso estudo apresenta algumas limitações. Embora a maior parte dos casos de SII-D apresente histórico de diarreia infecciosa prévia, não pudemos caracterizar SII-D pós-infecciosa de acordo com os critérios de ROMA IV. Nossos pacientes foram incluídos caso apresentassem número de evacuações diárias igual ou superior a 3 e preenchessem os critérios de SII. De acordo com os critérios de ROMA IV, o diagnóstico de SII pós-infecciosa requer o início dos sintomas após a resolução de uma quadro de gastroenterocolite aguda que é definido por coprocultura positiva em um paciente sintomático ou ainda pela presença de 2 dos seguintes sintomas (febre, vômitos ou diarreia)^[91]. Como o anticorpo anti-CdtB é derivado da fisiopatologia da SII pós-infecciosa, os resultados negativos devem ser analisados com cautela.

Além disso, no nosso estudo os anticorpos não foram analisados no momento do diagnóstico de SII-D. Alguns autores já demonstraram que os sintomas compatíveis com SII como dor abdominal e diarreia se manifestam nos primeiros 6 meses após um episódio infeccioso agudo, com o próprio termo sugere^[92]. É descrito na literatura que a sua resolução acontece em 25% dos pacientes no primeiro ano e em até metade deles entre 6 a 8 anos ^[93, 94]. Este fato talvez resulte em valores séricos inferiores do anticorpo anti-CdtB no grupo SII-D. Corrigiríamos esta limitação caso os pacientes com SII-D fossem incluídos no momento do seu diagnóstico, o que demandaria maior tempo destinado à pesquisa.

Outra limitação foi não termos alcançado o número amostral no grupo de pacientes com DII em remissão endoscópica (grupo 2) conforme previamente calculado. Uma das dificuldades foi o fato de os pacientes apresentarem doença de longa duração, com muitos casos de cirurgia abdominal, considerado critério de

exclusão para o estudo. É preciso levantar a possibilidade de o tamanho amostral não ter sido suficiente para demonstrar diferença estatística.

A falta de significância estatística dos nossos achados não enfraquece o uso dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico de SII pós-infecciosa. Os anticorpos foram propostos à luz do conhecimento mais atual da fisiopatologia da SII: disbiose, às alterações da motilidade intestinal, ao aumento da permeabilidade intestinal, regulação imune e hipersensibilidade visceral. Entretanto, em pacientes com DII, não contribuíram para o diagnóstico de SII no presente estudo.

Os nossos resultados não podem ser aplicados à população em geral. Este trabalho foi realizado em um serviço de saúde quaternário, que incluiu pacientes com múltiplas comorbidades, tempo prolongado de doença e em uso de medicações imunossupressoras. A SII-D é uma doença prevalente de baixa complexidade e o seu diagnóstico sorológico reduz os custos para o sistema de saúde, evita exames invasivos e direciona o tratamento adequado, como já demonstrado na literatura ^[78].

5.2 Síndrome de supercrescimento bacteriano em pacientes com SII-D

O supercrescimento bacteriano de intestino delgado é uma condição frequentemente associada à SII e com potencial terapêutico importante no controle dos sintomas gastrointestinais. Diferentemente do que acreditava, o SBID pode ocorrer na ausência de fatores anatômicos predisponentes. De fato, um percentual variável de pacientes com SII tem sido diagnosticados com SBID, e essa observação tem implicações terapêuticas diretas e contribui para o entendimento da patogênese da SII.

No presente trabalho, os pacientes com SII-D foram submetidos a teste respiratório de hidrogênio para detecção de SBID com substrato lactulose. O protocolo de preparo para o teste seguiu as orientações descritas no consenso americano de SBID. Os pacientes foram orientados a restringir alimentos fermentáveis no dia que antecedeu ao exame, suspender o uso de procinéticos ou

probióticos por 7 dias e não fumar. O tempo aproximado de duração do teste foi de 180 minutos para cada indivíduo, que é o recomendável no consenso americano.

Encontramos uma prevalência elevada de SBID nos pacientes com SII-D (58%). Na literatura, as diferenças técnicas relacionadas ao substrato utilizado e o tempo de aferição do exame mais reduzido (120 min em alguns estudos) limitam a análise comparativa ^[56].

Uma prevalência de supercrescimento que varia de 4 a 78% tem sido relatada em pacientes com comparada a 1 a 40% em controles ^[48]. No Brasil, os dados são escassos. No estudo de Costa *et al*, avaliando 46 pacientes que preenchiam o diagnóstico de SII(n=23 com predomínio de diarreia, n=12 com predomínio de constipação e n=11 com quadros mistos), a positividade global no teste de H₂ foi de 15,2% e no teste de CH₄ foi 10,9%.

Essa variação de prevalência reflete diferenças na população estudada, critérios diagnósticos diferentes e, mais importante, diferenças nos métodos utilizados para o diagnóstico. Embora cultura quantitativa do aspirado jejunal seja o padrão ouro, raramente é utilizada na prática clínica, tendo sido substituída com frequência pelos testes respiratórios. Um aumento na concentração de hidrogênio expirado é um critério comumente aceito. Entretanto, o aumento na concentração de metano tem sido sugerido como útil, sobretudo em casos de constipação, devido à sua produção tanto pelo intestino delgado quanto pelos cólons pela ação de bactérias do domínio Archaea, predominantemente *Methanobrevibacter smithii*.

No presente estudo, não realizamos o teste de metano. Todavia, é pouco provável que mudasse a prevalência de SBID, uma vez que o teste é utilizado em casos de constipação, condição ausente nos pacientes incluídos.

5.3 Direções futuras

Este trabalho abre novas perspectivas e direções para pesquisas. Estudos são necessários para garantir a validação externa e padronização dos anticorpos anti-

CdtB e anti-vinculina, e, ainda, para definir os pontos de corte ideais em diferentes populações.

Torna-se necessário comparar os níveis séricos dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina com a intensidade dos sintomas gastrointestinais, tanto em pacientes com SII-D quanto naqueles com DII, assim como correlaciona-los com cepas de *Campylobacter* com diferentes potenciais de toxicidade (expressão de CdtB).

No Brasil é fundamental estabelecer o potencial de reação cruzada do anti-vinculina com o anticorpo contra espécies de *Giardia* e estudar outros biomarcadores no contexto de alta prevalência de *Campylobacter* que não expressa CdtB.

Tendo em vista a prevalência elevada de supercrescimento bacteriano de intestino delgado em pacientes com SII-D, acreditamos que poderia ser explicação para a persistência da diarreia nos casos de DII em remissão e que preenchem os critérios ROMA IV para SII. Essa possibilidade merece estudos futuros.

6.CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente estudo, podemos concluir que:

- a) Os níveis séricos dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina não diferiram entre os grupos do estudo, não conseguindo diagnosticar a sobreposição entre doença inflamatória intestinal em remissão e síndrome do intestino irritável;
- b) Pacientes incluídos no grupo DII-SII apresentaram tendência de valores mais elevados de anti-vinculina quando comparados aos demais grupos;
- c) A prevalência de supercrescimento bacteriano no grupo de SII-D foi de 58%.

7. REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. de SBFR, Carvalho ATP, de VCAJ, de V Carneiro AJ, de Barros Moreira AMH, Moreira JPL, Luiz RR, de Souza HS. The socio-economic impact of work disability due to inflammatory bowel disease in Brazil. *Eur J Health Econ*. 2018;19(3):463-70.
2. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54 e42; quiz e30.
3. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2018;390(10114):2769-78.
4. Gasparini RG, Sasaki LY, Saad-Hossne R. Inflammatory bowel disease epidemiology in Sao Paulo State, Brazil. *Clin Exp Gastroenterol*. 2018;11:423-9.
5. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2017;389(10080):1756-70.
6. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Pevrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet*. 2017;389(10080):1741-55.
7. de Souza HS, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(1):13-27.
8. Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of disease: inflammatory bowel diseases. *Mayo Clin Proc*. 2019;94(1):155-65.

-
9. Sartor RB, Wu GD. Roles for intestinal bacteria, viruses, and fungi in pathogenesis of inflammatory bowel diseases and therapeutic approaches. *Gastroenterology*. 2017;152(2):327-39 e4.
 10. Pittayanon R, Lau JT, Leontiadis GI, Tse F, Yuan Y, Surette M, Moayyedi P. Differences in gut microbiota in patients with vs without inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Gastroenterology*. 2019. pii: S0016-5085(19)41893-3.
 11. Ford AC, Lacy BE, Talley NJ. Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med*. 2017;376(26):2566-78.
 12. Halpin SJ, Ford AC. Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(10):1474-82.
 13. Quigley EM. Overlapping irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: less to this than meets the eye? *Therap Adv Gastroenterol*. 2016;9(2):199-212.
 14. Vivinus-Nebot M, Frin-Mathy G, Bziouche H, Dainese R, Bernard G, Anty R, Filippi J, Saint-Paul MC, Tulic MK, Verhasselt V, Hébuterne X, Piche T. Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. *Gut*. 2014;63(5):744-52.
 15. Collins SM. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology*. 1996;111(6):1683-99.
 16. Farrokhyar F, Marshall JK, Easterbrook B, Irvine EJ. Functional gastrointestinal disorders and mood disorders in patients with inactive inflammatory bowel disease: prevalence and impact on health. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(1):38-46.

-
17. Berrill JW, Green JT, Hood K, Campbell AK. Symptoms of irritable bowel syndrome in patients with inflammatory bowel disease: examining the role of sub-clinical inflammation and the impact on clinical assessment of disease activity. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(1):44-51.
 18. Afrin LB, Self S, Menk J, Lazarchick J. Characterization of mast cell activation syndrome. *Am J Med Sci.* 2017;353(3):207-15.
 19. Choung RS, Locke GR, 3rd. Epidemiology of IBS. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011;40(1):1-10.
 20. Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(7):712-21 e4.
 21. Camilleri M, Katzka DA. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Genetic epidemiology and pharmacogenetics in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;302(10):G1075-84.
 22. Chey WD, Kurlander J, Eswaran S. Irritable bowel syndrome: a clinical review. *JAMA.* 2015;313(9):949-58.
 23. Martin CR, Osadchiy V, Kalani A, Mayer EA. The brain-gut-microbiome axis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2018;6(2):133-48.
 24. Liu HN, Wu H, Chen YZ, Chen YJ, Shen XZ, Liu TT. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis.* 2017;49(4):331-7.
 25. Menees S, Chey W. The gut microbiome and irritable bowel syndrome. *F1000Res.* 2018;7, pii: F1000 Faculty Rev-1029.

-
26. Johnson JD, Campisi J, Sharkey CM, Kennedy SL, Nickerson M, Greenwood BN, Fleshner M. Catecholamines mediate stress-induced increases in peripheral and central inflammatory cytokines. *Neuroscience*. 2005;135(4):1295-307.
 27. Santos J, Saunders PR, Hanssen NP, Yang PC, Yates D, Groot JA, Perdue MH. Corticotropin-releasing hormone mimics stress-induced colonic epithelial pathophysiology in the rat. *Am J Physiol*. 1999;277(2):G391-9.
 28. Mearin F, Lacy BE, Chang L, Chey WD, Lembo AJ, Simren M, Spiller R. Bowel disorders. *Gastroenterology*. 2016. pii: S0016-5085(16)00222-5.
 29. Schmulson MJ, Drossman DA. What is new in Rome IV. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017;23(2):151-63.
 30. Creed F. Review article: the incidence and risk factors for irritable bowel syndrome in population-based studies. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;50(5):507-16.
 31. Spiller R, Garsed K. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2009;136(6):1979-88.
 32. Thabane M, Kottachchi DT, Marshall JK. Systematic review and meta-analysis: The incidence and prognosis of post-infectious irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26(4):535-44.
 33. Pimentel M. Evidence-based management of irritable bowel syndrome with diarrhea. *Am J Manag Care*. 2018;24(3 Suppl):S35-S46.
 34. Halvorson HA, Schlett CD, Riddle MS. Postinfectious irritable bowel syndrome--a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(8):1894-9; quiz 942.
 35. Lee YY, Annamalai C, Rao SSC. Post-infectious irritable bowel syndrome. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017;19(11):56.

-
36. Lin JF, Chen JM, Zuo JH, Yu A, Xiao ZJ, Deng FH, Nie B, Jiang B. Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(8):1407-15.
37. Gracie DJ, Williams CJ, Sood R, Mumtaz S, Bholah MH, Hamlin PJ, Ford AC. Negative effects on psychological health and quality of life of genuine irritable bowel syndrome-type symptoms in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(3):376-84 e5.
38. Coates MD, Lahoti M, Binion DG, Szigethy EM, Regueiro MD, Bielefeldt K. Abdominal pain in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(10):2207-14.
39. Porter CK, Cash BD, Pimentel M, Akinseye A, Riddle MS. Risk of inflammatory bowel disease following a diagnosis of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:55.
40. Henriksen M, Hoivik ML, Jelsness-Jorgensen LP, Moum B; IBSSEN Study Group. Irritable bowel-like symptoms in ulcerative colitis are as common in patients in deep remission as in inflammation: results from a population-based study [the IBSSEN Study]. *J Crohns Colitis*. 2018;12(4):389-93.
41. Abdalla MI, Sandler RS, Kappelman MD, Martin CF, Chen W, Anton K, Long MD. Prevalence and impact of inflammatory bowel disease-irritable bowel syndrome on patient-reported Outcomes in CCFA partners. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(2):325-31.
42. Gracie DJ, Hamlin JP, Ford AC. Longitudinal impact of IBS-type symptoms on disease activity, healthcare utilization, psychological health, and quality of life in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2018;113(5):702-12.
43. Jonefall B, Strid H, Ohman L, Svedlund J, Bergstedt A, Simren M. Characterization of IBS-like symptoms in patients with ulcerative colitis in clinical remission. *Neurogastroenterol Motil*. 2013;25(9):756-e578.

-
44. Swan C, Duroudier NP, Campbell E, Zaitoun A, Hastings M, Dukes GE, Cox J, Kelly FM, Wilde J, Lennon MG, Neal KR, Whorwell PJ, Hall IP, Spiller RC. Identifying and testing candidate genetic polymorphisms in the irritable bowel syndrome (IBS): association with TNFSF15 and TNFalpha. *Gut*. 2013;62(7):985-94.
45. Casen C, Vebo HC, Sekelja M, Hegge FT, Karlsson MK, Ciemniejewska E, Dzankovic S, Frøyland C, Nestestog R, Engstrand L, Munkholm P, Nielsen OH, Rogler G, Simrén M, Öhman L, Vatn MH, Rudi K. Deviations in human gut microbiota: a novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42(1):71-83.
46. Spiller R, Major G. IBS and IBD - separate entities or on a spectrum? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(10):613-21.
47. Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Brydon WG, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. *Gut*. 2010;59(6):767-74.
48. Ghoshal UC, Shukla R, Ghoshal U. Small intestinal bacterial overgrowth and irritable bowel syndrome: a bridge between functional organic dichotomy. *Gut Liver*. 2017;11(2):196-208.
49. Shah A, Talley NJ, Jones M, Kendall BJ, Koloski N, Walker MM, Morrison M, Holtmann GJ. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Am J Gastroenterol*. 2020
50. Adike A, DiBaise JK. Small intestinal bacterial overgrowth: nutritional implications, diagnosis, and management. *Gastroenterol Clin North Am*. 2018;47(1):193-208.
51. Pimentel M. Breath testing for small intestinal bacterial overgrowth: should we bother? *Am J Gastroenterol*. 2016;111(3):307-8.

-
52. Quigley EMM. The spectrum of small intestinal bacterial overgrowth (SIBO). *Curr Gastroenterol Rep*. 2019;21(1):3.
53. Ghoshal UC, Kumar S, Mehrotra M, Lakshmi C, Misra A. Frequency of small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome and chronic non-specific diarrhea. *J Neurogastroenterol Motil*. 2010;16(1):40-6.
54. Spiegel BM, Chey WD, Chang L. Bacterial overgrowth and irritable bowel syndrome: unifying hypothesis or a spurious consequence of proton pump inhibitors? *Am J Gastroenterol*. 2008;103(12):2972-6.
55. Rezaie A, Pimentel M, Rao SS. How to test and treat small intestinal bacterial overgrowth: an evidence-based approach. *Curr Gastroenterol Rep*. 2016;18(2):8.
56. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, Schmulson M, Valdovinos M, Zakko S, Pimentel M. Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol*. 2017;112(5):775-84.
57. Gatta L, Scarpignato C. Systematic review with meta-analysis: rifaximin is effective and safe for the treatment of small intestine bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;45(5):604-16.
58. Mosli MH, Zou G, Garg SK, Feagan SG, MacDonald JK, Chande N, Sandborn WJ, Feagan BG. C-reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(6):802-19; quiz 20.
59. Kathiresan S, Larson MG, Vasani RS, Guo CY, Gona P, Keaney JF Jr, Wilson PW, Newton-Cheh C, Musone SL, Camargo AL, Drake JA, Levy D, O'Donnell CJ, Hirschhorn JN, Benjamin EJ. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive

protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C-reactive protein level. *Circulation*. 2006;113(11):1415-23.

60. Louis E. Fecal calprotectin: towards a standardized use for inflammatory bowel disease management in routine practice. *J Crohns Colitis*. 2015;9(1):1-3.

61. Sipponen T, Bjorkesten CG, Farkkila M, Nuutinen H, Savilahti E, Kolho KL. Faecal calprotectin and lactoferrin are reliable surrogate markers of endoscopic response during Crohn's disease treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(3):325-31.

62. Bressler B, Panaccione R, Fedorak RN, Seldman EG. Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015;29(7):369-72.

63. D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S, Baert F, Noman M, Moortgat L, Geens P, Iwens D, Aerden I, Van Assche G, Van Olmen G, Rutgeerts P. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(12):2218-24.

64. Naismith GD, Smith LA, Barry SJ, Munro JI, Laird S, Rankin K, Morris AJ, Winter JW, Gaya DR. A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2014;8(9):1022-9.

65. Mooiweer E, Severs M, Schipper ME, Fidder HH, Siersema PD, Laheij RJ, Oldenburg B.. Low fecal calprotectin predicts sustained clinical remission in inflammatory bowel disease patients: a plea for deep remission. *J Crohns Colitis*. 2015;9(1):50-5.

66. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2000;119(1):15-22.

-
67. Tursi A, Elisei W, Picchio M, Giorgetti G, Brandimarte G. Accuracy of rapid fecal calprotectin test in monitoring inflammatory bowel diseases under treatment with TNFalpha antagonists. *Dig Dis Sci*. 2015;60(5):1406-13.
68. Lai CK, Chen YA, Lin CJ, Lin HJ, Kao MC, Huang MZ, Lin YH, Chiang-Ni C, Chen CJ, Lo UG, Lin LC, Lin H, Hsieh JT, Lai CH. Molecular mechanisms and potential clinical applications of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:9.
69. Pons BJ, Vignard J, Mirey G. Cytolethal distending toxin subunit B: A review of structure-function relationship. *Toxins (Basel)*. 2019;11(10)
70. Pokkunuri V, Pimentel M, Morales W, Jee SR, Alpern J, Weitsman S, Marsh Z, Low K, Hwang L, Khoshini R, Barlow GM, Wang H, Chang C. Role of cytolethal distending toxin in altered stool form and bowel phenotypes in a rat model of post-infectious irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil*. 2012;18(4):434-42.
71. Pimentel M, Morales W, Pokkunuri V, Brikos C, Kim SM, Kim SE, Triantafyllou K, Weitsman S, Marsh Z, Marsh E, Chua KS, Srinivasan S, Barlow GM, Chang C.. Autoimmunity links vinculin to the pathophysiology of chronic functional bowel changes following *Campylobacter jejuni* infection in a rat model. *Dig Dis Sci*. 2015;60(5):1195-205.
72. Wilson ZS, Witt H, Hazlett L, Harman M, Neumann BM, Whitman A, Patel M, Ross RS, Franck C, Reichner JS, Lefort CT. Context-dependent role of vinculin in neutrophil adhesion, motility and trafficking. *Sci Rep*. 2020;10(1):2142.
73. Narcisi EM, Paulin JJ, Fechheimer M. Presence and localization of vinculin in *Giardia*. *J Parasitol*. 1994;80(3):468-73.
74. Pimentel M, Morales W, Rezaie A, Marsh E, Lembo A, Mirocha J, Leffler DA, Marsh Z, Weitsman S, Chua KS, Barlow GM, Bortey E, Forbes W, Yu A,

Chang C. Development and validation of a biomarker for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in human subjects. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126438.

75. Morales W, Rezaie A, Barlow G, Pimentel M. Second-generation biomarker testing for irritable bowel syndrome using plasma anti-CdtB and anti-vinculin levels. *Dig Dis Sci*. 2019

76. Rezaie A, Park SC, Morales W, Marsh E, Lembo A, Kim JH, Weitsman S, Chua KS, Barlow GM, Pimentel M. Assessment of anti-vinculin and anti-cytolethal distending toxin B antibodies in subtypes of irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci*. 2017;62(6):1480-5.

77. Barlow GM, Rezaie A, Lin E, Pimentel M.. A definitive blood test for post-infectious irritable bowel syndrome? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;10(11):1197-9.

78. Pimentel M, Purdy C, Magar R, Rezaie A. A predictive model to estimate cost savings of a novel diagnostic blood panel for diagnosis of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Ther*. 2016;38(7):1638-52 e9.

79. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Moher D, Rennie D, de Vet HC, Lijmer JG; Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Ann Intern Med*. 2003;138(1):W1-12.

80. Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, Bruns DE, Gatsonis CA, Hooft L, Irwig L, Levine D, Reitsma JB, de Vet HC, Bossuyt PM. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration. *BMJ Open*. 2016;6(11):e012799.

81. Kim JH, Lin E, Pimentel M. Biomarkers of irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017;23(1):20-6.

-
82. Zhu S, Liu S, Li H, Zhang Z, Zhang Q, Chen L, Zhao Y, Chen Y, Gu J, Min L, Zhang S. Identification of gut microbiota and metabolites signature in patients with irritable bowel syndrome. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:346.
83. Vermeire S, Noman M, Van Assche G, Baert F, D'Haens G, Rutgeerts P. Effectiveness of concomitant immunosuppressive therapy in suppressing the formation of antibodies to infliximab in Crohn's disease. *Gut*. 2007;56(9):1226-31.
84. Klem F, Wadhwa A, Prokop LJ, Sundt WJ, Farrugia G, Camilleri M, Singh S, Grover M. Prevalence, risk factors, and outcomes of irritable bowel syndrome after infectious enteritis: A systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017;152(5):1042-54 e1.
85. Scallan Walter EJ, Crim SM, Bruce BB, Griffin PM. Postinfectious irritable bowel syndrome after *Campylobacter* infection. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(10):1649-56.
86. do Nascimento Veras H, Medeiros P, Ribeiro SA, Freitas TM, Santos AKS, Amaral MSMG, Bona MD, Havt A, Lima IFN, Lima NL, Di Moura A, Leite ÁM, Soares AM, Filho JQ, Guerrant RL, Lima AAM. *Campylobacter jejuni* virulence genes and immune-inflammatory biomarkers association with growth impairment in children from Northeastern Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(10):2011-20.
87. Platts-Mills JA, Kosek M. Update on the burden of *Campylobacter* in developing countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27(5):444-50.
88. Coelho CH, Durigan M, Leal DAG, Schneider AB, Franco RMB, Singer SM. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(10):e0006005.

-
89. Schmulson M, Balbuena R, Corona de Law C. Clinical experience with the use of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in patients with diarrhea in Mexico. *Rev Gastroenterol Mex.* 2016;81(4):236-9.
90. Talley NJ, Holtmann G, Walker MM, Burns G, Potter M, Shah A, Jones M, Koloski NA, Keely S. Circulating anti-cytolethal distending toxin B and anti-vinculin antibodies as biomarkers in community and healthcare populations with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(7):e00064.
91. Barbara G, Grover M, Bercik P, Corsetti M, Ghoshal UC, Ohman L, Rajilić-Stojanović M. Rome Foundation Working Team Report on post-infection irritable bowel syndrome. *Gastroenterology.* 2019;156(1):46-58 e7.
92. Card T, Enck P, Barbara G, Boeckxstaens GE, Santos J, Azpiroz F, Mearin F, Aziz Q, Marshall J, Spiller R. Post-infectious IBS: Defining its clinical features and prognosis using an internet-based survey. *United European Gastroenterol J.* 2018;6(8):1245-53.
93. Neal KR, Barker L, Spiller RC. Prognosis in post-infective irritable bowel syndrome: a six year follow up study. *Gut.* 2002;51(3):410-3.
94. Marshall JK, Thabane M, Garg AX, Clark WF, Moayyedi P, Collins SM; Walkerton Health Study Investigators. Eight year prognosis of postinfectious irritable bowel syndrome following waterborne bacterial dysentery. *Gut.* 2010;59(5):605-11.

8. ANEXOS

8 ANEXOS

8.1 Anexo A – Aprovação CAPPEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: APLICABILIDADE CLÍNICA DOS ANTICORPOS ANTI-CDTB E ANTI-VINCULINA PARA DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DO INTESTINO IRRITÁVEL EM PACIENTES COM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

Pesquisador: Alberto Quelroz Farias

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 90200218.8.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.727.928

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto com colaboração internacional para avaliação de marcadores sorológicos (anti-CDTB e anti-vinculina) para identificar a Síndrome do Intestino Irritável em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais em remissão endoscópica que mantenham diarreia.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: avaliar a aplicabilidade clínica e o desempenho do anticorpo anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais em remissão endoscópica que se apresentem com persistência de diarreia.

Objetivo Secundário: observar a coexistência de supercrescimento bacteriano nesta população de pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos estão relacionados a coleta de sangue.

Sem benefícios diretos para o paciente. O estudo poderá identificar pacientes com sintomas compatíveis com Síndrome do Intestino Irritável e com anticorpo positivo para diagnóstico desta doença.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira César CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)2861-7585 Fax: (11)2861-7585 E-mail: cappesq.edm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 2.727.928

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto com boa fundamentação teórica, metodologia adequada aos objetivos propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE foi elaborado em linguagem clara e objetiva.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delimitado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP Interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1107830.pdf	21/05/2018 17:50:38		Aceito
Outros	Lista_de_documentos.pdf	21/05/2018 17:50:21	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Outros	Carta_de_acetacao.pdf	18/05/2018 08:30:20	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Outros	Convite_para_colaboracao.pdf	18/05/2018 08:29:57	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Folha de Rosto	FR_Luisa.pdf	18/05/2018 08:28:33	Alberto Queiroz Farias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE1_Modificado.doc	16/05/2018 10:24:02	Alberto Queiroz Farias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE2_Doutorado.doc	16/05/2018 10:23:46	Alberto Queiroz Farias	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: capesq.edm@hc.fm.usp.br

USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Continuação do Parecer: 2.727.028

Ausência	TCLE2_Doutorado.doc	16/05/2018 10:23:46	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Orçamento	Declaracao_custo.pdf	09/04/2018 11:21:46	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Outros	Fomularios.doc	09/04/2018 11:18:21	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Doutorado_09042018.doc	09/04/2018 11:16:33	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Outros	Carta_ao_Laboratorio_Cedars_Sinal.pdf	09/04/2018 09:06:31	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Orçamento	Declaracao_orcamento.doc	09/04/2018 09:04:10	Alberto Queiroz Farias	Aceito
Cronograma	Cronograma_Doutorado.docx	09/04/2018 09:03:33	Alberto Queiroz Farias	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 21 de Junho de 2018

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

8.2 Anexo B – Questionário

Dados Clínicos

Aplicabilidade clínica dos anticorpos anti-CdtB e anti-vinculina para diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável em pacientes portadores de Doenças Inflamatórias Intestinais.

Identificação no estudo

Data da Inclusão

Nome completo

RGHC

Telefone

Sexo

- ☐ Feminino
☐ Masculino

Etnia

- ☐ Branca
☐ Preta
☐ Amarela
☐ Pardo
☐ Indígena
☐ Não informada

Data de nascimento

Idade (anos)

IMC (Kg/m²)

Tabagismo atual

- ☐ Sim
☐ Não

Tabagismo pregresso

- ☐ Sim
☐ Não

Carga tabágica (anos/maço)

Escolaridade

- ☐ Analfabeto
- ☐ Fundamental Incompleto
- ☐ Fundamental Completo
- ☐ Médio Incompleto
- ☐ Médio Completo
- ☐ Superior

Renda Familiar

- ☐ Até 2 salários mínimos
- ☐ De 5 a 10 salários mínimos
- ☐ De 10 a 15 salários mínimos
- ☐ De 15 a 20 salários mínimos
- ☐ Acima de 20 salários mínimos

Diagnóstico

- ☐ DC em atividade
- ☐ DC em remissão
- ☐ RCUI em atividade
- ☐ RCUI em remissão
- ☐ SII-D
- ☐ Controle assintomático

Tempo de diagnóstico

Diferença do início dos sintomas ao diagnóstico

Idade ao Diagnóstico

Localização da Doença

Comportamento da Doença

Montreal RCUI

História familiar de DII

- ☐ Sim
- ☐ Não

Cirurgia abdominal prévia

Tratamentos prévios

- ☐ Derivados 5-ASA
- ☐ Corticosteroide oral
- ☐ Corticosteroide venoso
- ☐ Azatioprina
- ☐ 6-Mercaptopurina
- ☐ Metotrexato
- ☐ Infliximabe
- ☐ Adalimumabe
- ☐ Certolizumabe
- ☐ Vedo/Ustequinumabe

Tratamento atual

- ☐ Derivados 5-ASA
- ☐ Corticosteroide oral
- ☐ Corticosteroide venoso
- ☐ Azatioprina
- ☐ 6-Mercaptopurina
- ☐ Metotrexato
- ☐ Infliximabe
- ☐ Adalimumabe
- ☐ Certolizumabe
- ☐ Vedo/Ustequinumabe

Calprotectina fecal (mg/kg)

Hemoglobina (g/dL)

Leucograma (mil/mm³)

Plaquetas (mil/mm³)

Proteína C Reativa (mg/L)

Ferro sérico (µg/dL)

Saturação de Transferrina (%)

Ferritina (ng/mL)

Ácido fólico (ng/mL)

Vitamina B12 (pg/mL)

Albumina (g/dL)

TGO / TGP

TSH/T4 livre	<div></div>
Sorologias virais	<div></div>
Teste respiratório para Supercrescimento Bacteriano	<div><div></div> Positivo</div> <div><div></div> Negativo</div>
Resultado (ppm)	<div></div>
Colonoscopia	<div><div></div> Sim</div> <div><div></div> Não</div>
SES-CD	<div></div>
Escore de Mayo	<div></div>
Anti-CdtB	<div></div>
Anti-vinculina	<div></div>

HBI

Valor: _____

Harvey-Bradshaw Simple Index

Variavel	Descrição	Escore
1	BEM ESTAR GERAL	0 = muito bom 1 = bom 2 = ruim 3 = muito ruim 4 = péssimo
2	DOR ABDOMINAL	0 = nenhum 1 = leve 2 = moderado 3 = severo
3	Nº EVACUAÇÕES LÍQUIDAS / DIA	1 = por nº evacuação
4	MASSA ABDOMINAL	0 = nenhuma 1 = duvidosa 2 = bem definida 3 = bem definida e dolorosa
5	COMPLICAÇÕES	1 ponto por item • artralgia • uveíte • eritema nodoso • úlcera aftóides • pioderma gangrenoso • fissura anal • fistula anal • abscesso

Remissão: ≤4 pontos
Resposta: ≤3 pontos

Mayo Simplificado

Valor: _____

Número total de evacuações	(0) Número normal para o paciente (1) 1 ou 2 evacuações a mais que o normal (2) 3 a 4 evacuações a mais que o normal (3) 5 ou mais evacuações a mais que o normal
Sangramento retal	(0) Sem sangue (1) Raias de sangue nas fezes em menos da metade das vezes (2) Sangue vivo evidente com fezes na maioria das evacuações (3) Evacuações com sangue puro
Achados endoscópicos	(0) Normal ou inativa (1) Doença leve (enantema, perda do padrão vascular, leve friabilidade) (2) Doença moderada (enantema evidente, perda do padrão vascular, friabilidade, erosões) (3) Doença grave (sangramento espontâneo, ulcerações)
Avaliação médica global	(0) Normal ou inativa (1) Doença leve (2) Doença moderada (3) Doença grave

ROMA IV

Perguntas	Sim	Não
Dor abdominal recorrente (Mais de 1 dia por semana, em média, nos 3 meses anteriores) com início há mais de 6 meses do diagnóstico		
A dor abdominal está relacionada à defecação?		
A dor abdominal está relacionada à mudança da frequência das fezes?		
A dor abdominal está relacionada à mudança da forma (aparência) das fezes?		

Escala de Bristol

Tipo 01 ()

Tipo 01 Pedacos separados, duros como amendoim

Tipo 02 ()

Tipo 02 Forma de salsicha, mas segmentada

Tipo 03 ()

Tipo 03 Forma de salsicha, mas com fendas na superfície

Tipo 04 ()

Tipo 04 Forma de salsicha ou cobra, lisa e mole

Tipo 05 ()

Tipo 05 Pedacos moles, mas contornos nítidos

Tipo 06 ()

Tipo 06 Pedacos aerados, contornos esgarçados

Tipo 07 ()

Tipo 07 Aquosa, sem peças sólidas

8.3 Anexo C – Artigo publicado

- Barros LL, Farias AQ, Rezaie A. Gastrointestinal motility and absorptive disorders in patients with inflammatory bowel diseases: Prevalence, diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2019 Aug 21; 25(31): 4414-4426.