LENYCIA DE CASSYA LOPES NERI

**Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística e
perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança -
HCFMUSP**

Dissertação (versão corrigida)
apresentada ao Instituto de Medicina
Tropical da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências.

São Paulo

2017

LENYCIA DE CASSYA LOPES NERI

**Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística e
perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança -
HCFMUSP**

Dissertação (versão corrigida)
apresentada ao Instituto de Medicina
Tropical da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Orientador: Dr. Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

São Paulo

2017

Ficha catalográfica

Preparada pela Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo

© Reprodução autorizada pelo autor

Neri, Lenycia de Cassya Lopes

Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística e perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança - HCFMUSP / Lenycia de Cassya Lopes Neri. – São Paulo, 2017.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

Orientador: Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho

Descritores: 1. FIBROSE CÍSTICA. 2. NUTRIÇÃO. 3. PROBIÓTICOS. 4. CRIANÇAS EM IDADE PRÉ-ESCOLAR.

USP/IMTSP/BIB-03/2017.

Dedico esta dissertação

Aos meus pais Maria Aparecida Lopes Neri e João Evangelista Neri: meus grandes exemplos de fé, determinação, honestidade e humildade, pois sem o incentivo e apoio deles, em todos os momentos de minha vida, eu não teria chegado tão longe.

Aos meus irmãos Letícia Aparecida Lopes Neri e João Evangelista Neri Júnior pelo carinho e suporte em todas as fases de meus estudos.

À minha nova família linda: Marcos Ribeiro da Silva Carvalho e minhas filhas do coração Lucy e Emily por todos os momentos de alegria e descontração nos intervalos possíveis entre a dedicação aos meus trabalhos.

Aos meus sogros Márcia e Jairo por terem aceitado com tanto carinho e orgulho esta nova filha e dado o incentivo de eternos professores à minha jornada de estudo e trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, fonte inesgotável de amor e sabedoria, e aos meus mentores espirituais que sempre me orientam em minha jornada evolutiva e inspiram meu trabalho.

Ao meu orientador, que pacientemente me acolheu como aluna não-médica e manteve orientação contínua de em todas as fases do projeto que se tornou mestrado.

Às co-orientadoras Monica Taminato e Denise Pimentel pelo carinho, incentivos, paciência e fundamental ajuda em fases tão importantes da estruturação estatística e redação dos artigos e dissertação.

À equipe da Pneumologia Pediátrica no Instituto da Criança, pela valorização do profissional nutricionista e incentivo à realização de trabalhos científicos multidisciplinares.

Às colegas de profissão no Instituto da Criança, que acompanharam meu sonho de realizar este mestrado, e incentivaram e deram suporte para realização deste.

“Nascer, morrer, renascer ainda e progredir sempre, tal é a lei.”

— Allan Kardec

RESUMO

Neri LCL. Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística e perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança - HCFMUSP (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2017.

Fibrose cística é uma doença hereditária, caracterizada por alterações no transporte de cloro nas membranas das células epiteliais, gerando a produção de muco espesso e anormal, o que pode obstruir os ductos de glândulas exócrinas de vários órgãos. As manifestações clínicas principais da doença abrangem os sistemas respiratório (com infecções pulmonares recorrentes e crônicas) e gastrointestinal (com insuficiência pancreática e consequente má-digestão e absorção de nutrientes, levando a desnutrição energético-protéica). Existem evidências de que a constituição da microbiota intestinal pode influenciar a colonização do trato respiratório de indivíduos com fibrose cística. Esta dissertação teve como objetivo realizar revisão sistemática e metanálise das publicações científicas sobre o uso de pré, pró ou simbióticos em fibrose cística, além de avaliar a situação nutricional dos pacientes com fibrose cística acompanhados no Instituto da Criança - HCFMUSP. A revisão sistemática e metanálise seguiu protocolo proposto pela Colaboração Cochrane, com buscas em bases de dados eletrônicas com os termos prebióticos ou probióticos ou simbióticos e fibrose cística. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados que abordassem os desfechos de inflamação intestinal e/ou exacerbações pulmonares. O estudo de avaliação nutricional foi realizado através de levantamento de dados antropométricos e clínicos, além de questionários aplicados a pacientes e responsáveis sobre dados de consumo alimentar e características socioeconômicas. Na busca bibliográfica foram encontrados 48 diferentes estudos, e somente 6 atingiram os critérios para integrar a metanálise. Foi observado efeito protetor do uso de probióticos e simbióticos na taxa

de exacerbação pulmonar em pacientes com fibrose cística quando comparados com placebo (OR= -1,01 (IC 95% -1,66; -0,37), $p = 0,002$). Os níveis de calprotectina fecal (indicador de inflamação intestinal) tiveram redução significativa após intervenção (OR= -12,18 (IC 95%: -22,50; -1,86), $p = 0,02$), e houve diminuição dos pacientes com inflamação intestinal (calprotectina > 50 mcg/g de fezes) com OR= 0,31 (IC 95%: 0,13; 0,79), $p = 0,01$. Na avaliação do perfil nutricional foram incluídos 101 pacientes (59,4% do gênero masculino, 86,4% caucasianos), e a mediana de idade na inclusão foi de 10 anos. A maioria dos pacientes foi classificada como eutrófica, com consumo alimentar adequado. Valores menores de escore Z de IMC foram observados em escolares e adolescentes, e a proporção de pacientes com peso abaixo do esperado aumenta de 10% entre pré-escolares para 35% na faixa etária escolar. As características socioeconômicas não demonstraram relação com consumo alimentar ou estado nutricional. Os valores de função pulmonar foram mais baixos em adolescentes e indivíduos com pior estado nutricional, porém sem diferença significativa. Dados da metanálise, apesar da limitação amostral, apontaram o uso de probióticos como fator de proteção para exacerbações respiratórias, bem como para inflamação intestinal. Resultados da avaliação nutricional indicam que a transição das faixas etárias pré-escolar para escolar é um momento crítico, portanto abordagens direcionadas para estas faixas etárias podem ser de grande importância para preservação da saúde nutricional. Sendo assim, recomenda-se que mais estudos de estratégias nutricionais preventivas sejam realizados em faixas etárias precoces, como suplementação de probióticos, visando a melhora do prognóstico de pacientes com fibrose cística.

Descritores: Fibrose cística. Nutrição. Probióticos. Crianças em idade pré-escolar.

ABSTRACT

Neri LCL. Systematic review of the literature on the use of probiotics in cystic fibrosis and nutritional profile of patients treated at Children's Institute - HCFMUSP (dissertation). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2017.

Cystic fibrosis is a hereditary disease characterized by deficiency of chloride transportation in epithelial cell membranes, resulting in thick and abnormal mucus, which may obstruct ducts of exocrine glands in several organs. The main clinical manifestations include the respiratory (recurrent and chronic lung infections) and gastrointestinal systems (pancreatic insufficiency and consequent maldigestion and absorption of nutrients, resulting in malnutrition). There is evidence that intestinal microbiota composition may impact the respiratory tract colonization of individuals with cystic fibrosis. This study aimed to verify current evidence regarding the effects of supplementation of probiotics, prebiotics or both in cystic fibrosis patients, concerning gastrointestinal and respiratory outcomes. We performed a systematic review and meta-analysis, and additionally carried out a survey of the nutritional status of patients with cystic fibrosis attending the outpatient clinic of the Instituto da Criança HCFMUSP. The systematic review and meta-analysis was performed according to the protocol proposed by the Cochrane Collaboration, searching electronic databases using the terms “prebiotics” or “probiotics” or “synbiotic”, and “cystic fibrosis”. Randomized clinical trials addressing intestinal inflammation and/or pulmonary exacerbations were included. The assessment of nutritional status was carried out through a cross-sectional survey of medical records concerning clinical and anthropometric data, and also by applying a questionnaire to patients and caregivers concerning food consumption, and socioeconomic characteristics. The bibliographic search identified 48 different studies, but only 6 fulfilled criteria to be included in the meta-analysis. A

protective effect of probiotic and symbiotic use was observed in the rate of pulmonary exacerbations when compared to placebo (OR = -1.01 (95%CI -1.66, -0.37), $p=0.002$). The levels of fecal calprotectin (indicator of intestinal inflammation) had a significant reduction after intervention (OR = -12.18 (95%CI: -22.50, -1.86), $p=0.02$) and there was a decrease in the proportion of patients with intestinal inflammation (calprotectin > 50 mcg/g feces) with OR = 0.31 (95%CI: 0.13, 0.79), $p=0.01$. Regarding nutritional assessment, 101 patients were included (59.4% male, 86.4% white race), and median age at inclusion was 10 years old. The majority of patients were considered to be eutrophic and have adequate food intake, but lower values of BMI Z-score were observed in schoolchildren and adolescents. The proportion of underweight patients increased from 10% among preschoolers to 35% of the school age group. The socioeconomic characteristics were not associated to the food consumption or nutritional status. Lung function was lower in adolescents and individuals with poor nutritional status, but without significant difference. Data from the meta-analysis, despite the limitations of sample size, indicated that the use of probiotics may be a protective factor for respiratory exacerbations as well as intestinal inflammation. Results of the nutritional assessment indicate that the transition from the pre-school to the school age groups is a critical period, and therefore approaches directed to these age groups may have a significant impact in the nutritional health. Towards that, further studies using preventive nutritional strategies such as probiotic supplementation, are recommended for younger age groups, aiming to improve the prognosis of patients with cystic fibrosis.

Descriptors: Cystic fibrosis. Nutrition. Probiotics. Children in preschool age.

SUMÁRIO

Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstract	ix
1 Introdução.....	14
1.1 Fibrose cística.....	14
1.2 Nutrição em fibrose cística.....	15
1.3 Microbiota intestinal.....	16
1.4 Microbiota e fibrose cística.....	14
1.5 Objetivos.....	18
2 Métodos.....	20
2.1 Métodos do estudo de revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística.....	20
2.1.1 Critérios de inclusão e exclusão.....	20
2.1.2 Estratégia de identificação dos estudos.....	20
2.1.3 Seleção dos estudos.....	21
2.1.4 Avaliação da qualidade metodológica.....	21
2.2 Métodos do estudo de perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança - HCFMUSP.....	22
2.2.1 Levantamento de dados.....	22
2.2.2 Consumo alimentar dos pacientes ICr - HCFMUSP.....	23
2.2.3 Características socioeconômicas dos pacientes ICr - HCFMUSP.....	24
2.2.4 Dados antropométricos dos pacientes ICr - HCFMUSP.....	24
2.2.5 Hábito intestinal dos pacientes ICr - HCFMUSP.....	25
2.2.6 Dados clínicos dos pacientes ICr - HCFMUSP.....	25

2.3	Análise estatística.....	26
3	Resultados.....	28
3.1	Manuscrito 1: “Probiotics and cystic fibrosis: a systematic review and meta-analysis”	29
3.2	Manuscrito 2: “Pré-escolares: chave para manutenção do estado nutricional em fibrose cística?”	52
4	Conclusões.....	72
	Referências bibliográficas.....	75
	Anexos.....	80

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

Table 1	Main characteristics of the studies for the systematic review and meta-analysis.....	49
Table 2	Main characteristics of the studies selected for the systematic review, bus excluded from the meta-analysis.....	51

MANUSCRITO 2

Tabela 1	Descrição das características sócio demográficas, dados antropométricos e clínicos por faixa etária dos pacientes com fibrose cística incluídos no estudo.....	68
Tabela 2	Adequação reportada do consumo de macronutrientes (percentual do valor recomendado para pacientes com fibrose cística) de acordo com a faixa etária dos pacientes incluídos no estudo.....	69

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO 1

Figure 1	Study selection flowchart for the systematic review and meta-analysis..	45
Figure 2	Risk of bias table and graph.....	46
Figure 3	Effects of probiotics or synbiotics compared to placebo on odds ratio of pulmonary exacerbation rates of cystic fibrosis patients.....	47
Figure 4	Effects of probiotics or synbiotics compared to placebo on odds ratio of fecal calprotectin levels os cystic fibrosis patients.....	48

MANUSCRITO 2

Figura 1	Classificação dos pacientes com fibrose cística de acordo com o estado nutricional (categorias do escore Z) e faixa etária.....	70
Figura 2	Gráficos de box-plot demonstrando valores de escore Z do VEF1 de acordo com as faixas etárias escolar e adolescente (A) e de acordo com as categorias de estado nutricional (B).....	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fibrose cística

A fibrose cística (FC) é uma doença letal hereditária de caráter autossômico recessivo. Dados do relatório de 2014 do Grupo Brasileiro de Estudos em Fibrose Cística apontam 3.511 pacientes em acompanhamento no Brasil, sendo que a mediana de idade dos pacientes brasileiros é 11,5 anos, e cerca de 25% dos pacientes tem 18 anos ou mais ¹.

Com mais de duas mil diferentes mutações no cromossomo 7 que codifica a proteína CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), acarreta principalmente alterações no transporte de íons (cloro e sódio) e água em células do sistema respiratório, gastrointestinal, hepatobiliar, reprodutivo e glândulas sudoríparas ^{2,3}.

Os distúrbios de transporte de água e íons levam ao espessamento do muco e propiciam um meio propício para proliferação e persistência de bactérias, resultando em infecções crônicas do sistema respiratório, com impacto grande na saúde dos indivíduos. As infecções respiratórias são tratadas com antibioticoterapia e de forma crônica estas comunidades bacterianas tornam-se resistentes ao tratamento, levando à insuficiência respiratória progressiva, que é a principal causa da mortalidade destes pacientes ⁴⁻⁷.

Além do sistema respiratório, o gastrointestinal também é afetado, resultando, na maioria dos pacientes, em manifestações secundárias à insuficiência pancreática (canalículos pancreáticos obstruídos por tampões mucosos), secreção deficiente de bicarbonato, alterações na motilidade intestinal e presença excessiva de muco nos enterócitos. Todos estes fatores causam má digestão de gorduras, proteínas e carboidratos e consequente má-absorção. A manifestação clínica é de diarreia crônica,

com fezes volumosas, gordurosas, pálidas, de odor característico, que se não tratada adequadamente leva à desnutrição energético-proteica ⁸.

Os avanços no tratamento clínico e nutricional de portadores de FC têm trazido ganhos importantes na sobrevida de pacientes, que atualmente alcançam a terceira ou quarta década de vida com frequência ⁹.

1.2 Nutrição em fibrose cística

A desnutrição em fibrose cística causa perda global de massa muscular, sendo assim ocorre uma diminuição na contratilidade e resistência dos músculos, incluindo os músculos respiratórios. Este enfraquecimento nos músculos respiratórios contribui para a diminuição de trocas gasosas nas vias aéreas e aumenta o risco de infecções. O estado nutricional do paciente com FC é crucial no prognóstico geral ⁵.

A desnutrição e o déficit de crescimento em fibrose cística é frequente e ocorre tanto devido a dificuldade em alcançar as necessidades energéticas ¹⁰, que são aumentadas nos portadores de FC ¹¹, quanto pelas perdas de energia causadas pela doença, que se devem principalmente à inflamação e infecção pulmonar crônica, má absorção causada pela insuficiência pancreática, alteração na circulação entero-hepática de sais biliares e antibioticoterapia freqüente. A desnutrição pode ser agravada pela presença de anorexia, decorrente de refluxo gastroesofágico e/ou tosse, piora da infecção respiratória crônica e estresse psicossocial ¹⁰, e está associada com a queda da qualidade de vida e maior morbidade ¹².

A terapia nutricional na FC tem como objetivos: avaliar o estado nutricional e acompanhar a evolução pondero estatural do paciente; intervir precocemente na reabilitação nutricional quando necessário e promover educação nutricional para garantir uma alimentação adequada ¹³.

Em relação às características da prescrição dietética em FC, a dieta deve ser hipercalórica (alcançando 120 a 150% da *Recommended Dietary Allowances* - RDA) e hiperlipídica (com 40% do VCT provenientes de gorduras), com menor proporção de carboidratos (40 a 50% do VCT) e normoprotéica (15 a 20% do VCT) ^{3, 14, 15}.

Uma vez que o consumo energético para FC é fundamental para o bom prognóstico da doença, quando não é possível atender às necessidades calóricas através da ingestão habitual de alimentos é necessário a utilização de suplementos orais/enterais. Estes suplementos são, de modo geral, dietas orais ou enterais completas hipercalóricas, de uso pediátrico ou adulto. Também poderão ser utilizados alguns módulos, como o de TCM (triglicérides de cadeia média) para favorecer a dieta hiperlipídica.⁶. De modo geral, pode se dizer que a prescrição é individualizada, de acordo com as necessidades do paciente, com a finalidade de manter ou recuperar o estado nutricional ¹³.

1.3 Microbiota intestinal

Atualmente a microbiota intestinal é reconhecida pelo papel fundamental em vários processos nutricionais, metabólicos e imunológicos. A microbiota intestinal é estabelecida desde o nascimento, iniciando sua colonização predominantemente com bifidobactérias e depois aumentando exponencialmente a diversidade até alcançar a fase adulta onde várias centenas de espécies, especialmente dos filos Firmicutes e Bacteroidetes ¹⁶.

Os probióticos são definidos pela FAO/OMS como microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem efeitos benéficos à saúde do indivíduo. Os probióticos mais comumente utilizados como suplementos são dos

gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, comumente encontrados na microbiota intestinal de lactentes ¹⁷.

Prebiótico é um nutriente não digerível que determina efeito benéfico para o hospedeiro por estimular seletivamente uma ou um grupo de bactérias do cólon com propriedade de probiótico(s). São prebióticos: fruto-oligossacarídeos, inulina, glico-oligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeos, xylo-oligossacarídeos, entre outros ¹⁸.

Simbióticos são suplementos que associam os probióticos com prebióticos em diferentes quantidades e cepas bacterianas.

Os probióticos são referidos na literatura como bactérias não patogênicas e amigáveis que beneficiam o hospedeiro através da colonização e implantação de uma microbiota saudável. A terapia de administração de cepas específicas de probióticos tem por objetivo a inoculação e normalização da microbiota intestinal desbalanceada. Esta terapia tem efeitos benéficos em várias patologias, sendo já comprovada a eficácia em infecções, alergias, inflamações e neoplasias ^{19, 20}.

1.4 Microbiota e fibrose cística

Os pacientes com FC parecem estar predispostos à síndrome de hipercrecimento bacteriano intestinal (*bacterial overgrowth*), que pode resultar em inflamação da mucosa intestinal, comprovada com maiores concentrações de calprotectina fecal e produção de óxido nítrico retal ^{8, 21}.

Além disso, pacientes com fibrose cística são frequentemente submetidos a antibioticoterapia, que pode alterar a microbiota intestinal, por exterminar a microbiota benéfica e favorecer o crescimento de bactérias patogênicas, as quais podem levar inclusive a quadros de diarreia ¹⁹.

Em um estudo sobre a caracterização da microbiota do trato intestinal e respiratório em pacientes lactentes com FC, alguns autores evidenciaram uma concordância dos gêneros de bactérias entre os dois sistemas, sendo a colonização intestinal anterior à observada no trato respiratório. Os autores sugerem que os fatores nutricionais e consequente padrão de colonização intestinal são determinantes da microbiota respiratória, podendo representar uma oportunidade de intervenção em FC, como por exemplo, com probióticos ⁷.

A despeito disso, existe a possibilidade de que a constituição adequada da microbiota intestinal possa influenciar a colonização do trato respiratório de indivíduos com fibrose cística, com mecanismo envolvido ainda por esclarecer ²¹.

1.5 Objetivos

a) Objetivo Geral

Realizar revisão sistemática e metanálise das publicações científicas sobre o uso de pré, pró ou simbióticos em fibrose cística, além de avaliar o perfil nutricional dos pacientes com fibrose cística acompanhados no Instituto da Criança – HCFMUSP;

b) Objetivos Específicos

Realizar busca bibliográfica nas bases de dados científicas e selecionar os trabalhos originais com qualidade metodológica adequada publicados sobre o uso de pré, pro e/ou simbióticos em fibrose cística;

Realizar metanálise com ensaios clínicos randomizados para verificar se existe efeito benéfico ou não do uso de pré, pro e/ou simbióticos em fibrose cística nos desfechos de exacerbações pulmonares e inflamação intestinal;

Avaliar o estado nutricional e consumo alimentar dos pacientes atendidos no Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFUSP).

2 MÉTODOS

2.1 Métodos do estudo de revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos em fibrose cística

2.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Esta revisão sistemática com metanálise seguiu os passos propostos pela Colaboração Cochrane²². Em princípio todos os estudos encontrados foram incluídos, independente do idioma ou data de publicação para a revisão sistemática.

Como critérios de inclusão na metanálise o estudo deveria ter sido realizado com pacientes diagnosticados com fibrose cística, ser do tipo ensaio clínico randomizado controlado (com placebo ou grupo controle) e apresentar pelo menos um dos desfechos estudados: inflamação intestinal (aferida através de índices de calprotectina fecal) e exacerbações pulmonares agudas (aferida com os critérios da Cystic Fibrosis Foundation).

As intervenções presentes na metanálise incluíram a administração de probióticos (única cepa ou várias cepas) ou simbióticos (quando os probióticos foram associados a frutoligosacarídeos - prebióticos). Não foram encontrados estudos somente com administração de prebióticos.

2.1.2 Estratégias de identificação dos estudos

Os estudos foram identificados por meio de busca eletrônica no banco de dados da *Cochrane Library* (incluindo o *Cochrane Controlled Trials Register – The Cochrane Controlled Trials Register*), Pubmed, Embase, LILACS, SciELO, e busca manual de resumos de trabalhos apresentados em congressos, referências de artigos

de revisão e de revisão sistemática publicados e identificados, além de referências de artigos de revisão e de revisão sistemática e referências de ensaios clínicos randomizados identificados.

Os principais descritores na estratégia de busca foram: prebiótico (prebiotics) ou probiótico (probiotics) ou simbiótico (synbiotics) e fibrose cística (cystic fibrosis). Também foram realizadas buscas com o descritor lactobacilos, sendo obtido resultado semelhante aos termos anteriores.

2.1.3 Seleção de estudos

Os trabalhos foram lidos para averiguar se preencheriam os critérios de inclusão por dois revisores independentes.

Os revisores avaliaram os títulos e resumos de todos os estudos identificados e foram obtidas fotocópias de todos os artigos relevantes.

Os fichamentos dos artigos foram realizados de forma detalhada e quando os dados descritos nos artigos não foram suficientes para inclusão dos dados na metanálise, um contato com os autores foi tentado por e-mail para solicitação de dados completos.

2.1.4 Avaliação da qualidade metodológica

A qualidade metodológica foi definida como a confiança dos revisores de que o desenho e o relato do estudo estão livres de vieses. Os revisores, de forma independente e avaliaram o risco de viés, com base nos seguintes tópicos: geração de sequência aleatória, ocultação da alocação, cegamento dos participantes e profissionais, cegamento dos avaliadores de desfechos, relatos completos dos desfechos, relato de todos desfechos, e outras fontes de viés. Cada fator de qualidade foi classificado como sim (baixo risco de viés), não (alto risco de viés) ou pouco claro

(risco moderado de viés), de acordo com o Manual de Colaboração Cochrane (versão 5.0.1)²².

2.2 Métodos do estudo de perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança - HCFMUSP

2.2.1 Levantamento de dados

Foram selecionados para o estudo os pacientes atendidos no ambulatório de pneumologia pediátrica do Instituto da Criança (ICr), no período de janeiro a agosto de 2014. O ICr é um hospital universitário público pediátrico terciário, situado na Zona Oeste de São Paulo e atende crianças e adolescentes de 0 a 18 anos, de todo o Brasil e América Latina, principalmente pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O atendimento é realizado por equipes multidisciplinares compostas por assistentes sociais, educadores, enfermeiros, fisioterapeutas, médicos, nutricionistas, psicólogos e terapeutas ocupacionais.

O ambulatório de Pneumologia funciona as segundas, quartas e quintas, sendo que os pacientes com fibrose cística tem seu atendimento agendado de acordo com sua colonização pulmonar, a fim de reduzir o risco de infecções cruzadas entre os pacientes na sala de espera.

Foram convidados a participar desta pesquisa todos os pacientes (ou responsáveis) com fibrose cística (diagnosticada por dois testes de cloro no suor com valores indicativos da doença) e atendidos no ambulatório de nutrição. Manifestaram aceitação em participar através da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, conforme aprovação do comitê de ética do Instituto de Medicina Tropical – FMUSP (ANEXO A) e validação no Instituto da Criança (ANEXO B).

O questionário abrangeu características de consumo alimentar, socioeconômicas, antropometria, hábito intestinal e dados clínicos de colonização pulmonar e utilização de alguns medicamentos específicos de fibrose cística.

Para levantamento de alguns dados foi realizada a revisão do prontuário, considerada como informação verdadeira em detrimento a relatos de cuidadores devido viés de memória. Estes dados coletados em prontuário foram relacionados ao histórico da doença como tempo de diagnóstico e atendimento no Instituto, além de dados clínicos, microbiológicos e de função pulmonar.

2.2.2 Consumo alimentar dos pacientes ICr - HCFMUSP

Para análise do consumo alimentar foi realizado, por um nutricionista treinado, o levantamento do consumo alimentar no dia anterior ao dia da consulta (recordatório de 24h), mesmo que este dia fosse um domingo (final de semana). Após o levantamento dos dados foi questionado se o relatado era um dia de consumo alimentar habitual ou não. Para análises relacionadas ao consumo alimentar, foram excluídos todos os pacientes que relataram que não foi um dia alimentar habitual referido ou que estivessem vivenciando uma exacerbação pulmonar aguda (segundo critérios da consulta médica).

Todos os registros foram calculados através do programa NutWin ²³ para quantidade de calorias e macronutrientes. A análise do consumo alimentar foi realizada com base nos valores preconizados para cada paciente pelo *Institute of Medicine* ²⁴, utilizando-se as recomendações nutricionais das crianças saudáveis. Para macronutrientes optou-se por utilizar os valores mínimos necessários. No entanto, houve um ajuste das recomendações de energia e macronutrientes de acordo com os valores recomendados para fibrose cística, ou seja, houve um acréscimo de vinte por cento para as calorias propostas individualmente; e com este valor energético aplicou-

se o mínimo necessário de todas as recomendações de macronutrientes (40% das calorias de carboidratos; 15% das calorias de proteínas; 35% das calorias de lipídios), de acordo com o proposto pelos consensos de fibrose cística (dieta hipercalórica, hiperlipídica e hipoglicídica)^{3, 14}.

2.2.3 Características socioeconômicas dos pacientes ICr - HCFMUSP

Foram questionados dados como número de pessoas na casa, renda familiar. A renda familiar (obtida em reais) foi transformada em categorias de maior ou menor que um salário mínimo per capita para realização das análises.

2.2.4 Dados antropométricos dos pacientes ICr - HCFMUSP

Os dados antropométricos (peso e estatura) foram coletados durante a consulta médica, sendo que todos os médicos são treinados para realização adequada da antropometria, conforme segue descrição. As crianças até dois anos foram pesadas completamente despidas em balança eletrônica pediátrica da marca Filizola Baby com carga máxima de quinze quilos e variação de cinco gramas; crianças acima de vinte e quatro meses foram pesadas em balanças digitais tipo plataforma da marca Welmy com carga superior a quinze quilos e capacidade máxima de duzentos quilos. As crianças foram posicionadas no centro da balança, despidas ou com roupas leves e sem sapatos. O comprimento de crianças até vinte e quatro meses foi medido em decúbito dorsal com antropômetro pediátrico e nas crianças maiores do que dois anos a medida de estatura foi realizada na posição em pé em antropômetro vertical fixo na parede da marca Sanny. Todos os equipamentos são periodicamente calibrados. Através destas medidas os pacientes foram classificados de acordo com o estado nutricional de acordo com o programa Anthro e Anthro Plus da OMS em escores Z de

peso para estatura (crianças até 2 anos), peso para idade (crianças até 10 anos), estatura para idade e índice de massa corporal (IMC) para idade^{25, 26}.

Foram considerados eutróficos os pacientes com escore Z do IMC (z IMC) entre -1 e +1 para crianças acima de 2 anos de idade, sendo utilizado o parâmetro de peso para estatura para crianças menores de 2 anos, nos mesmos critérios de corte de escore Z. Apesar de considerado eutrófico pela OMS o paciente na faixa de -1 a -2 escore Z, este foi considerado como abaixo do esperado nesta dissertação por se tratar de população com grandes exigências nutricionais, onde qualquer decréscimo do percentil 50 pode ser prejudicial²⁷.

2.2.5 Hábito intestinal dos pacientes ICr- HCFMUSP

O hábito intestinal foi questionado ao paciente (em caso de adolescentes) ou responsável. Os dados questionados foram número de evacuações em um dia habitual, consistência (de acordo com escala Bristol de forma fecal²⁸), coloração (amarelada, marrom, verde) e presença de dores abdominais.

2.2.6 Dados clínicos dos pacientes ICr - HCFMUSP

Os dados de colonização pulmonar para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *S. maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* metilino-resistente (MRSA) e Complexo *B. cepacia* foram preenchidos de acordo com o prontuário médico da consulta no dia da coleta de dados (atual) ou na ausência deste dado, na consulta imediatamente anterior à data de coleta de dados. A colonização foi classificada como: crônica (mais do que cinquenta por cento das culturas positivas nos últimos 12 meses), intermitente (cinquenta por cento ou menos de culturas positivas nos últimos 12 meses), livre (sem isolamento nos últimos 12 meses, tendo anteriormente cultura positiva) ou nunca (nunca teve cultura positiva).

Dados da função pulmonar (espirometria) foram coletados dos dados do Registro Brasileiro de Fibrose Cística (dados de 2013). As categorias de classificação de capacidade pulmonar, segundo Cystic Fibrosis Pulmonary Guidelines, 2007 foram: normal >90% do esperado no volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), leve 70-89%, moderada 40-69%, grave <40% ²³.

2.3 Análise Estatística

Os dados obtidos através do questionário foram tabulados no programa Microsoft Excel versão 2010 e analisados por estatísticas descritivas (medianas, percentis 25 e 75) com software SPSS versão 19.

As variáveis foram testadas em sua distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As análises de associações entre variáveis categóricas contemplaram testes de qui-quadrado e para análises de variáveis contínuas foi utilizado o teste de distribuição não paramétrica de Mann-Whitney.

Para realização da revisão sistemática/metanálise, os estudos encontrados foram inicialmente estratificados de acordo com os tipos de desenho e, posteriormente, em relação aos desenhos, seguindo a metodologia *Cochrane* ²². Para as variáveis dicotômicas, odds ratio (OR) com respectivo intervalo de confiança de 95% foi calculado pelo modelo randômico ou fixo. A heterogeneidade foi estimada utilizando as estatísticas de teste χ^2 ($\alpha = 0.1$) e I^2 (baixa heterogeneidade: 25%, heterogeneidade moderada: 50% e alta heterogeneidade: 75%). Quando não houve heterogeneidade significativa entre os estudos ($p > 0,1$, $I^2 < 50\%$), utilizou-se um modelo de efeito fixo e utilizou-se um modelo de efeito randômico se houvesse heterogeneidade significativa ($p < 0,1$, $I^2 \geq 50\%$). As análises foram feitas com o programa *Review Manager 5*, disponibilizado pela *The Cochrane Collaboration* ²⁹.

O nível de significância de 0,05 foi considerado em ambos estudos para rejeição da hipótese nula.

3 RESULTADOS

Como resultados serão apresentados 2 manuscritos:

- MANUSCRITO 1 - PROBIOTICS AND CYSTIC FIBROSIS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS (submetido para NUTRITION RESEARCH AND PRACTICE – ANEXO C);
- MANUSCRITO 2 - PRÉ-ESCOLARES: CHAVE PARA MANUTENÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL EM FIBROSE CÍSTICA? (submetido para JORNAL DE PEDIATRIA – ANEXO D).

3.1 MANUSCRITO 1

PROBIOTICS AND CYSTIC FIBROSIS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Short Running Head: Meta-analysis: probiotics in cystic fibrosis

Lenyia de Cassya Lopes Neri¹, Monica Taminato¹, Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho²

1 Instituto da Criança - Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo;

2 Instituto de Medicina Tropical - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Corresponding author: Lenyia de Cassya Lopes Neri - lenyia@gmail.com

Rua Albina Barbosa, 273, Aclimação São Paulo SP Brasil. CEP 01530-020

Telephone: +55 11 983662866

No sources of financial support.

None potential conflicts of interest.

PROBIOTICS AND CYSTIC FIBROSIS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

ABSTRACT

Background: New concepts of human microbiome and host-pathogens interactions are leading to new perspectives for various diseases. Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease that results in malabsorption of nutrients and changes in bowel motility, impacting the constitution of gastrointestinal microbiota and resulting in intestinal inflammation. Chronic respiratory disease with recurrent and chronic infections is responsible for most of the morbidity and mortality of the patients. There are evidences of relationship between gastrointestinal and respiratory microbiota in CF. This study aimed to verify current evidence regarding the effects of supplementing probiotics, prebiotics or both in CF patients, concerning gastrointestinal and respiratory outcomes, by performing a systematic review and meta-analysis.

Materials and methods: Initial database search included all identified studies according to the recommendations of the Cochrane Collaboration, regardless of language or publication date. Only studies addressing acute pulmonary exacerbations and intestinal inflammation were included in the systematic review and meta-analysis, performed by using the software Cochrane Review Manager 5.3. **Results:** A total of 48 studies were identified, but only nine met the criteria for inclusion in the systematic review and six remained for the meta-analysis. A protective effect was found on the rate of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients using probiotics or synbiotics when compared to placebo, with an OR of -1.01 (95%CI: -1.66, -0.37 p=0.002). Regarding

intestinal inflammation, a significant effect was observed for fecal calprotectin levels before and after intervention, OR= -12.18 (95%CI: -22.50, -1,86), p=0.02 and also a significant reduction of patients with intestinal inflammation after intervention, with an OR= 0.31 (95%CI: 0.13, 0.79), p=0.01. **Conclusion:** Present data indicate a promising future of probiotics in cystic fibrosis on acute respiratory exacerbations and intestinal inflammation, but further studies of therapeutic interventions targeting the CF gastrointestinal microbiota are required.

Keywords: cystic fibrosis, probiotics, pulmonary exacerbation, intestinal inflammation

INTRODUCTION

Recent advances in molecular microbiological methods resulted in significant changes in the knowledge of human microbiota, and also new concepts of human microbiome and host-pathogens interactions ¹. The human gastrointestinal tract hosts an incredible amount of microbial communities, which interfere with nutrient processing and absorption, metabolism and immunity ². The impact of microbiome composition in a diversity of conditions such as allergy, diabetes, and other chronic diseases have been described ³, and there is evidence that nutrition and medications may interfere with the normal composition of gastrointestinal microbiota, resulting in dysbiosis ³.

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease that have early and significant impact in several functions of the gastrointestinal tract, with exocrine pancreatic insufficiency manifesting as early as during the intrauterine

life. Most CF patients have malabsorption of nutrients and changes in bowel motility, impacting the constitution of gastrointestinal microbiota ¹, and resulting also in intestinal inflammation. These findings were described in young children with CF ^{4, 5}, and other study showed that CFTR function (severity of CF genotype) may be associated with the severity of dysbiosis ⁶.

Since the primitive gut represents a common origin for both the gastrointestinal and respiratory systems, it would be reasonable to predict a possible relationship of microbiota between them, which has been shown in CF patients ⁷. Towards that, interventions with potential impact in the gastrointestinal microbiota composition could result in better outcomes of intestinal inflammation and also in respiratory symptoms in CF patients. The use of live potentially beneficial microbes (probiotics) ⁸, alone or in combination with specific non-digestible nutrients (prebiotics) ⁹ are currently the most feasible approach to interfere in this scenario.

Several studies reported beneficial effects of the use of probiotics, prebiotics and synbiotics (combination of pre and probiotics) in conditions such as diarrhea ¹⁰, necrotizing enterocolitis ¹¹, constipation ¹², irritable bowel syndrome ¹³, allergies ¹², and overweight ¹⁴.

This study aimed to verify current evidence regarding the effects of supplementing probiotics, prebiotics or both in cystic fibrosis patients, concerning gastrointestinal and respiratory outcomes, by performing a systematic review and meta-analysis.

MATERIALS AND METHODS

1. Search strategy

We searched the Pubmed, Embase, LILACS, SciELO, Pedro, Web of Science, and Cochrane databases (including The Cochrane Controlled Trials Register) to identify randomized controlled studies of probiotics, prebiotics, or synbiotics use in cystic fibrosis patients. The search was augmented by scanning references of identified reviews or conference reports.

This systematic review with meta-analysis followed the recommendations of the Cochrane Collaboration ¹⁵. All identified studies were included in the systematic review, regardless of language or publication date.

The main outcomes of interest were:

- Number or frequency of acute pulmonary exacerbations, defined by the Cystic Fibrosis Foundation criteria. ¹⁶
- Intestinal inflammation: measured by fecal calprotectin levels, which is a noninvasive intestinal inflammation marker, previously used in cystic fibrosis studies ¹⁷

The main descriptors in the search strategy were: (("prebiotics"[MeSH Terms] OR "prebiotics"[All Fields] OR "prebiotic"[All Fields] OR "probiotics"[Mesh Terms] OR "probiotics"[All Fields] OR "probiotic"[All Fields] OR symbiotic[All Fields]) AND (("fibrosis"[MeSH Terms] OR "fibrosis"[All Fields]) AND cystic[All Fields])

Additional searches using *{lactobacilli}* as keyword resulted in similar findings.

Probiotic supplements were considered as commensal bacterial or fungal supplements, in any form, including capsule, tablet, powder, softgel, or fortified

food forms. Synbiotics were defined as a combination of any form of prebiotics with any strains of probiotics.

2. Study selection and assessment of validity

The articles were read to check if they fulfilled inclusion criteria by two independent reviewers (LCLN and MT). In case of doubt, a third reviewer analyzed the articles (LVRFSF). The reviewers evaluated titles and abstracts of all identified studies, obtaining full text articles of all relevant findings. Data were extracted from the articles by the reviewers, and direct contact with the article's authors was attempted to obtain data requested to the meta-analysis, when needed.

The Cochrane Collaboration methods were used by two reviewers to independently evaluate study quality and the risk of bias, based on the studies' sequence generation, allocation concealment, blinding, incomplete outcome data, selective reporting, and other sources of biases. Each quality factor was classified as yes (low risk of bias), no (high risk of bias), or unclear (moderate risk of bias), according to the Cochrane Collaborations Handbook (version 5.0.1) ¹⁵.

3. Statistical analysis

The studies found were initially stratified according to type of study and subsequently in relation to the design, according to the Cochrane methodology. For dichotomous variables, odds ratios (OR) with respective 95% confidence interval were calculated by random or fixed models. Heterogeneity was estimated using the χ^2 test ($\alpha = 0.1$) and I^2 statistics (low heterogeneity: 25%, moderate heterogeneity: 50%, and high heterogeneity: 75%). When there was

no significant heterogeneity among the studies ($p > 0.1$, $I^2 < 50\%$), we used a fixed-effect model, and a random-effect model was used if significant heterogeneity was detected ($p < 0.1$, $I^2 \geq 50\%$). The analysis was performed by using Cochrane Review Manager 5.3¹⁹. The 0.05 significance level was considered to reject the null hypothesis.

RESULTS

Search results

A total of 48 studies were found, mainly in the Pubmed (35 studies), and Web of Science (19 studies), with additional 5 studies encountered in the Cochrane database. No other relevant study was found by searching references from review studies or other databases. We also didn't find articles regarding prebiotics use in cystic fibrosis. Selection by title and summary identified 39 studies for full reading, but only nine of these met the criteria for inclusion in the systematic review. Data verification resulted in additional exclusion of 3 articles for the meta-analysis, because they didn't report randomized controlled trial results (Figure 1).

Trial characteristics:

The six studies included in the meta-analysis (Bruzzese et al. 2007²⁰, Fallahi et al. 2013²¹, Del Campo et al. 2014²², Di Nardo et al. 2014²³, Jafari et al, 2013²⁴, Bruzzese et al, 2014²⁵), are described in Table 1. The three studies excluded from the meta-analysis are described in Table 2: Bruzzese et al, 2004¹⁷; Infant Pina et al, 2008²⁶ and Weiss et al, 2010²⁷.

All included studies were considered to have low risk of bias for main measures according to the Cochrane Handbook criteria¹⁵ as demonstrated in

figure 2. For masking purposes, four studies included in the meta-analysis^{21-23, 25} were randomized double-blinded trials, while one used single-blind strategies²⁰, and one study did not report blinding procedures²⁴.

A total of 267 patients were included in the studies, which were performed in Spain (1 study), Iran (2 studies) and Italy (3 studies). The duration of interventions ranged from 4 weeks to 6 months and age ranged from 2 to 44 years old.

Acute pulmonary exacerbations

A protective effect was observed on the rate of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients using probiotics or synbiotics when compared to placebo, with an OR of -1.01 (95% CI: -1.66, -0.37 $p = 0.002$), Figure 3.

Intestinal inflammation

Significant effect was observed in patients using probiotics or synbiotics versus placebo for fecal calprotectin levels before and after intervention, OR= -12.18 (95% CI: -22.50, -1.86), $p = 0.02$, Figure 4A. Another analysis was performed by using a categorization of fecal calprotectin levels in a cutoff value associated with intestinal inflammation (lower or higher than 50 mcg/g of feces). A protective effect was shown in patients using probiotics or synbiotics versus placebo, with a significant reduction of patients with intestinal inflammation (calprotectin levels higher than 50 mcg/g of feces) after intervention, with an OR= 0.31 (95% CI: 0.13, 0.79), $p = 0.01$, Figure 4B.

DISCUSSION

The main objective of this systematic review and meta-analysis was completed with a small number of studies, but showed a significant protective

effect of probiotics use in the frequency of acute respiratory exacerbations, and also in intestinal inflammation (fecal calprotectin levels). If these findings were confirmed by new prospective, randomized, double-blind studies, the potential impact could be significant. Prevention of acute respiratory exacerbations represents one of the most important aspects of current CF care, since they have been shown to have a profound negative impact on health related quality of life ²⁸, and also in well validated survivorship models ²⁹. Besides that, there are significant costs associated with intravenous antibiotic therapy ³⁰, therefore acute pulmonary exacerbations represent a key outcome variable in several clinical trials of CF.

Reducing intestinal inflammation, on the other hand, may have not only local effects such as changes in intestinal permeability and motility, but also in reducing risk for CF liver disease ³¹, and even in reducing systemic inflammation and metabolic dysregulation ¹.

Although we focused on these two outcomes in this review and meta-analysis, other outcomes were analyzed in the studies with significant improvements attributed to the use of probiotics, such as gastrointestinal comfort ^{22, 26}, quality of life ²⁴, intestinal nitric oxide production ¹⁷, and others.

While the mechanisms involved in dysbiosis related intestinal inflammation seem to be related to epithelial permeability, metabolism of bile acids, and gut hormone regulation ¹, the impact of dysbiosis and the therapeutic effect of probiotics in respiratory outcomes are not fully understood. Recent evidences indicate that gut microbiota may exert immunomodulatory actions beyond the gut ³, such as in the innate immune response, which is known to be

a significant element in lung disease in CF ³². Besides that, some studies demonstrated a potential interference of probiotics in biofilm formation ^{33, 34} and also in the expression of quorum sensing genes ^{33, 34} in *Pseudomonas aeruginosa* microbiological cultures. Notwithstanding, there are still several gaps that need to be answered by new studies, such as the impact of probiotics use in intestinal peristalsis, nutritional failure, CF liver disease, and also in endpoints of innate immune response, such as interferon levels, macrophagic and neutrophilic responses.

Besides the significant limitation of the sample size of the studies included in this meta-analysis, another caveat is the fact that different preparations of probiotics were studied, and the activities of probiotics may be strain-dependent ¹². The age of the patients included in the studies was also very heterogeneous, and it seems that the initial microbiota composition in infancy may have long term effects for the adult life ¹².

CONCLUSION

Present data indicate a promising future of probiotics in cystic fibrosis, since initial studies, though the small sample sizes, have shown a significant protective effect on acute respiratory exacerbations and intestinal inflammation. Further studies of therapeutic interventions targeting the CF gastrointestinal microbiota are required, aiming to fulfill some of the remaining gaps.

REFERENCES

1. Rogers GB, Narkewicz MR, Hoffman LR. The CF gastrointestinal microbiome: Structure and clinical impact. *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(S44):S35-S44. doi: 10.1002/ppul.23544. PubMed PMID: 27662102.
2. Putignani L, Del Chierico F, Petrucca A, Vernocchi P, Dallapiccola B. The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatr Res.* 2014;76(1):2-10. Epub 2014/04/14. doi: 10.1038/pr.2014.49. PubMed PMID: 24732106.
3. Lin L, Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunol.* 2017;18(1):2. Epub 2017/01/06. doi: 10.1186/s12865-016-0187-3. PubMed PMID: 28061847; PubMed Central PMCID: PMC5219689.
4. Hoffman LR, Pope CE, Hayden HS, Heltshe S, Levy R, McNamara S, et al. *Escherichia coli* dysbiosis correlates with gastrointestinal dysfunction in children with cystic fibrosis. *Clin Infect Dis.* 2014;58(3):396-9. Epub 2013/10/30. doi: 10.1093/cid/cit715. PubMed PMID: 24178246; PubMed Central PMCID: PMC3890337.
5. Manor O, Levy R, Pope CE, Hayden HS, Brittnacher MJ, Carr R, et al. Metagenomic evidence for taxonomic dysbiosis and functional imbalance in the gastrointestinal tracts of children with cystic fibrosis. *Sci Rep.* 2016;6:22493. Epub 2016/03/04. doi: 10.1038/srep22493. PubMed PMID: 26940651; PubMed Central PMCID: PMC4778032.
6. Schippa S, Iebba V, Santangelo F, Gagliardi A, De Biase RV, Stamato A, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) allelic

variants relate to shifts in faecal microbiota of cystic fibrosis patients. PLoS One. 2013;8(4):e61176. Epub 2013/04/17. doi: 10.1371/journal.pone.0061176. PubMed PMID: 23613805; PubMed Central PMCID: PMC3629184.

7. Hoen AG, Li J, Moulton LA, O'Toole GA, Housman ML, Koestler DC, et al. Associations between Gut Microbial Colonization in Early Life and Respiratory Outcomes in Cystic Fibrosis. J Pediatr. 2015;167(1):138-47.e1-3. Epub 2015/03/26. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.02.049. PubMed PMID: 25818499; PubMed Central PMCID: PMC4674690.

8. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London: FAO: WHO;2002.

9. Gibson G, Roberfroid M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995;125(6):1401-12.

10. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2011(11):CD004827. doi: 10.1002/14651858.CD004827.pub3. PubMed PMID: 22071814.

11. Yang Y, Guo Y, Kan Q, Zhou XG, Zhou XY, Li Y. A meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. Braz J Med Biol Res. 2014;47(9):804-10. PubMed PMID: 25098619; PubMed Central PMCID: PMC4143209.

12. Morais MB, Jacob CM. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. J Pediatr (Rio J). 2006;82(5 Suppl):S189-97. doi: 10.2223/JPED.1559. PubMed PMID: 17136295.

13. Vandenplas Y, Huys G, Daube G. Probiotics: an update. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91(1):6-21. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.08.005. PubMed PMID: 25458874.
14. Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:104. doi: 10.3389/fcimb.2012.00104. PubMed PMID: 22919693; PubMed Central PMCID: PMC3417542.
15. Higgins JP, Green S., editors. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* 5.1.0. [cited 2017 Jan 30]. Disponível em: <http://training.cochrane.org/handbook>.
16. CFF C, Foundation. F. *Microbiology and infectious disease in Cystic Fibrosis*. Consensus Conferences: Concept in care Bethesda, 1994.
17. Bruzzese E, Raia V, Gaudiello G, Polito G, Buccigrossi V, Formicola V, et al. Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2004;20(7):813-9. doi: 10.1111/j.1365-2036.2004.02174.x. PubMed PMID: WOS:000223995900012.
18. Jüni P, Altman DG, Egger M. Systematic reviews in health care: Assessing the quality of controlled clinical trials. *BMJ*. 2001;323(7303):42-6. PubMed PMID: 11440947; PubMed Central PMCID: PMC3417542.
19. *Review Manager (RevMan)*.version 5.3 [cited 2017 Jan 30] Available: <http://community.cochrane.org/tools/review-production-tools/revman-5>. *The Nordic Cochrane Centre*; 2014.
20. Bruzzese E, Raia V, Spagnuolo MI, Volpicelli M, De Marco G, Maiuri L, et al. Effect of *Lactobacillus* GG supplementation on pulmonary exacerbations in

patients with cystic fibrosis: a pilot study. *Clin Nutr.* 2007;26(3):322-8. doi: 10.1016/j.clnu.2007.01.004. PubMed PMID: 17360077.

21. Fallahi G, Motamed F, Yousefi A, Shafieyoun A, Najafi M, Khodadad A, et al. The effect of probiotics on fecal calprotectin in patients with cystic fibrosis. *Turkish Journal of Pediatrics.* 2013;55(5):475-8. PubMed PMID: WOS:000341415400002.

22. del Campo R, Garriga M, Perez-Aragon A, Guallarte P, Lamas A, Maiz L, et al. Improvement of digestive health and reduction in proteobacterial populations in the gut microbiota of cystic fibrosis patients using a *Lactobacillus reuteri* probiotic preparation: A double blind prospective study. *Journal of Cystic Fibrosis.* 2014;13(6):716-22. doi: 10.1016/j.jcf.2014.02.007. PubMed PMID: WOS:000345724200020.

23. Di Nardo G, Oliva S, Menichella A, Pistelli R, De Biase RV, Patriarchi F, et al. *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 in Cystic Fibrosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2014;58(1):81-6. doi: 10.1097/mpg.0000000000000187. PubMed PMID: WOS:000329188000028.

24. Jafari S-A, Mehdizadeh-Hakkak A, Kianifar H-R, Hebrani P, Ahanchian H, Abbasnejad E. Effects of Probiotics on Quality of Life in Children with Cystic Fibrosis; A Randomized Controlled Trial. *Iranian Journal of Pediatrics.* 2013;23(6):669-74. PubMed PMID: WOS:000328695300010.

25. Bruzzese E, Callegari ML, Raia V, Viscovo S, Scotto R, Ferrari S, et al. Disrupted Intestinal Microbiota and Intestinal Inflammation in Children with Cystic Fibrosis and Its Restoration with *Lactobacillus GG*: A Randomised

Clinical Trial. Plos One. 2014;9(2). doi: 10.1371/journal.pone.0087796. PubMed PMID: WOS:000331711900018.

26. Infante Pina D, Redecillas Ferreiro S, Torrent Vernetta A, Segarra Cantón O, Maldonado Smith M, Gartner Tizziano L, et al. [Improvement of intestinal function in cystic fibrosis patients using probiotics]. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69(6):501-5. PubMed PMID: 19128761.

27. Weiss B, Bujanover Y, Yahav Y, Vilozni D, Fireman E, Efrati O. Probiotic Supplementation Affects Pulmonary Exacerbations in Patients With Cystic Fibrosis: A Pilot Study. *Pediatric Pulmonology*. 2010;45(6):536-40. doi: 10.1002/ppul.21138. PubMed PMID: WOS:000278500000002.

28. Britto MT, Kotagal UR, Hornung RW, Atherton HD, Tsevat J, Wilmott RW. Impact of recent pulmonary exacerbations on quality of life in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 2002;121(1):64-72. PubMed PMID: 11796433.

29. Liou TG, Adler FR, Fitzsimmons SC, Cahill BC, Hibbs JR, Marshall BC. Predictive 5-year survivorship model of cystic fibrosis. *Am J Epidemiol*. 2001;153(4):345-52. PubMed PMID: 11207152; PubMed Central PMCID: PMC2198936.

30. Rubin JL, Thayer S, Watkins A, Wagener JS, Hodgkins PS, Schechter MS. Frequency and costs of pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis in the United States. *Curr Med Res Opin*. 2017:1-24. Epub 2017/01/06. doi: 10.1080/03007995.2016.1277196. PubMed PMID: 28058864.

31. Blanco PG, Zaman MM, Junaidi O, Sheth S, Yantiss RK, Nasser IA, et al. Induction of colitis in *cftr*^{-/-} mice results in bile duct injury. *Am J Physiol*

Gastrointest Liver Physiol. 2004;287(2):G491-6. Epub 2004/04/02. doi: 10.1152/ajpgi.00452.2003. PubMed PMID: 15064232.

32. Ralhan A, Laval J, Lelis F, Ballbach M, Grund C, Hector A, et al. Current Concepts and Controversies in Innate Immunity of Cystic Fibrosis Lung Disease. *J Innate Immun.* 2016;8(6):531-40. Epub 2016/07/01. doi: 10.1159/000446840. PubMed PMID: 27362371.

33. Alexandre Y, Le Berre R, Barbier G, Le Blay G. Screening of *Lactobacillus* spp. for the prevention of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infections. *Bmc Microbiology.* 2014;14. doi: 10.1186/1471-2180-14-107. PubMed PMID: WOS:000336675000001.

34. Cotar AI, Chifiriuc MC, Dinu S, Pelinescu D, Banu O, Lazăr V. Quantitative real-time PCR study of the influence of probiotic culture soluble fraction on the expression of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing genes. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2010;69(4):213-23. PubMed PMID: 21462836.

Figure 1: Study selection flowchart for the systematic review and meta-analysis.

Figure 2: Risk of bias table and graph: review authors' judgements about each risk of bias item presented as table (A) and percentages across all included studies (B).

Figure 3: Effects of probiotics or synbiotics compared to placebo on odds ratio of pulmonary exacerbation rates of cystic fibrosis patients.

Figure 4: Effects of probiotics or synbiotics compared to placebo on odds ratios of fecal calprotectin levels of cystic fibrosis patients. **A:** calprotectin difference pre and post pro or synbiotics administration; **B:** number of patients with intestinal inflammation diagnosed by calprotectin fecal concentration.

Table 1: Main characteristics of the studies selected for the systematic review and meta-analysis.

Author, Year, Country	Study design/ Sample size/ age	Interventions	Outcomes	Results
Del Campo et al, 2014, Spain ²²	Clinical trial, randomized, double blinded, placebo controlled n= 30 4 – 44 years	Probiotics: <i>Lactobacillus reuteri</i> (chewable tablet once a day - 10 ⁸) 6 months of treatment.	Fecal calprotectin levels (µg/ml)	Decrease in fecal calprotectin levels (33.8 vs. 20.3 µg/ml; p =0.003)
Fallahi G et al, 2013, Iran ²¹	Double blinded, placebo controlled n= 47 Older than four years, mean 8.65 years	Synbiotics: 1 g FOS + <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S.terrophillus</i> , <i>Bifidumbacterium breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. bulgaricus</i> - 10 ⁹ each (powder) 4 weeks of treatment.	Fecal calprotectin levels Limits of Normal: 50 µg /g	Fecal calprotectin levels classification changed after intervention: NS Lower average in the Symbiotic intervention group: symbiotic: 56.2 µg/g, placebo: 182.1 µg/g (p=0.031).
Di Nardo, 2014, Italy ²³	Double blinded, placebo controlled n=61 6-29 years	Probiotics: <i>L. reuteri</i> (10 ¹⁰) 5 drops a day 6 months of treatment.	Pulmonary exacerbations (upper respiratory tract infections) GI inflammation (fecal calprotectin levels - before and after intervention) Hospital admissions	Decrease upper respiratory tract infections reduced in the probiotic group (OR: 0.06 CI:0-0.40) Gastrointestinal tract and hospital admissions: NS Fecal calprotectin levels: NS Probiotic group: -60.61±79.4 µg/g Placebo group: -37.2±132.9 µg/g

Bruzzese, 2007, Italy ²⁰	Prospective randomized, placebo controlled, cross-over, single blinded n= 38 (19 each group) 5 - 23 years	Probiotics: <i>L. casei</i> GG (6x10 ⁹) - lyophilized – 6 months of treatment. Placebo: oral rehydration solution	Pulmonary exacerbations Hospital admissions	Decrease in Pulmonary exacerbations on probiotic group (p=0.003) Decrease in hospital admissions on probiotic group (p=0.01) Hospital stay: NS No side effects
Jafari S, et al, 2013, Iran ²⁴	Clinical trial, randomized, placebo controlled n= 37 (n: 20 probiotics: 17 control) 2-12 years	Probiotics: <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. termophilus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. bulgaricus</i> - 10 ⁹ each (2 caps / day) 1 month of treatment.	Pulmonary exacerbation rates in the 3 months after intervention (compared to the same three months last year)	Lower pulmonary exacerbation rates after probiotic use (p<0.01)
Bruzzese, 2014, Italy ²⁵	Clinical trial, randomized, double blinded placebo controlled n= 22 (10 probiotic group) 2- 9 years	Probiotics: <i>L. rhamnosus</i> GG (6x10 ⁹) - caps 1 month of treatment. Placebo: maltodextrin caps	Intestinal inflammation: Fecal calprotectin levels (µg/g) rectal NO	Fecal calprotectin levels decreasing after probiotics (p<0.05)

* NS= not significant results

Table 2: Main characteristics of the studies selected for the systematic review, but excluded from the meta-analysis.

Author, Year, Country	Study design/ Sample size/ age	Interventions	Outcomes	Results
Bruzzese, 2004 Italy ¹⁷	Clinical trial n=30 (n=10 probiotic group)	Probiotics: <i>L. rhamnosus</i> GG (5×10^9) - lyophilized 4 weeks of treatment.	Intestinal inflammation (fecal calprotectin levels) Rectal NO production	Fecal calprotectin levels higher in cystic fibrosis patients Reduction after probiotic ($p < 0.01$) NO higher in cystic fibrosis patients Reduction after probiotics ($p < 0.05$)
Infante Pina, 2008, Spain ²⁶	A pilot study with convenience sample n= 20 5-17 years	Probiotics: <i>L. rhamnosus</i> GG (2×10^{11}) 4 weeks of treatment.	Hydrogen breath testing Determination of fat, water, sugars and proteins in the stool	Significant decrease in the amount of sugar in feces after probiotics ($p < 0.05$) fat decrease: NS. Improved intestinal comfort and fecal macroscopic appearance, and decrease of bowel movements.
Weiss, 2010, Israel ²⁷	Prospective pilot study n= 10	Probiotics: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Streptococcus thermophiles</i> - 6×10^9 - 2 tablets /day 6 months of treatment.	Number of pulmonary exacerbations (compared to the same period of 6 months equivalent of 2 years prior to intervention)	Reduction of exacerbations (none during study) $p=0.002$

* NO = nitric oxide; NS = not significant

3.2 MANUSCRITO 2

PRÉ-ESCOLARES: CHAVE PARA MANUTENÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL EM FIBROSE CÍSTICA?

TÍTULO ABREVIADO: Estado nutricional pré-escolar em fibrose cística

Lenycia CL Neri

Nutricionista do Instituto da Criança – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – lenycia@gmail.com

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2624507078896651>

Participação no estudo: concepção do tema, coleta de dados, análise estatística, redação do artigo.

Denise P Bergamaschi

Professora doutora da Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo – denisepb@usp.br

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1022840087129916>

Participação no estudo: análise estatística, redação do artigo.

Luiz Vicente RF Silva Filho

Médico Assistente, Unidade de Pneumologia Pediátrica – Instituto da Criança – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Pesquisador Associado – Laboratório de Virologia, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo – vicres@usp.br

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9077654987698931>

Participação no estudo: concepção do tema, redação do artigo.

DECLARAÇÃO CONFLITO DE INTERESSE: Nada a declarar

INSTITUIÇÃO: Instituto da Criança – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

CORRESPONDENTE: Lenycia Neri, Rua Albina Barbosa, 273 Aclimação, São Paulo, SP Brasil CEP 03358-110, telefone (11) 983662866

lenycia@gmail.com

FONTE FINANCIADORA: nenhuma

NÚMERO TOTAL DE PALAVRAS ARTIGO: 2013

NÚMERO PALAVRAS RESUMO: 246

NÚMERO DE TABELAS E FIGURAS: 04

RESUMO

Objetivo: Avaliar o perfil nutricional dos pacientes atendidos em um centro de referência de fibrose cística para desenvolver estratégias de intervenção oportunas, efetivas e específicas para nossa população.

Métodos: Foi aplicado um questionário sobre hábitos alimentares (verificação de macronutrientes e energia de acordo com recomendações) e características socioeconômicas. Dados antropométricos (comparados com referencial OMS) e função pulmonar foram coletados do prontuário. Os pacientes foram estratificados em faixas etárias para análise estatística.

Resultados: Dos 101 pacientes incluídos no estudo, 59,4% eram do gênero masculino, sendo a maioria da raça branca (86,4%), com mediana de idade na inclusão no estudo de 10 anos. Apesar do grupo analisado ter se apresentado predominantemente eutrófico, valores menores de escore Z de IMC foram observados em escolares e adolescentes. A proporção de pacientes com peso abaixo do esperado aumenta de 10% para 35% da faixa etária de pré-escolar para escolar. O consumo alimentar mostrou-se adequado, e somente dois suplementos (triglicérides de cadeia média e suplemento em pó completo) tiveram utilização associada a adequação de ingestão de macronutrientes. As características socioeconômicas não demonstraram relação com o estado nutricional ou consumo nutricional. Os valores de escore Z do VEF1 foram mais baixos em adolescentes e indivíduos com pior estado nutricional, porém sem diferença significativa.

Conclusões: A maioria dos pacientes avaliados apresentou estado nutricional e consumo de calorias e macronutrientes adequados. Novos estudos

com delineamento específico em pré-escolares devem ser realizados para verificar se é possível reduzir o risco nutricional de pacientes com fibrose cística em idades posteriores.

ABSTRACT:

Objective: To evaluate the nutritional profile of the patients attending a cystic fibrosis reference center to develop timely, effective and specific intervention strategies for our population.

Methods: A questionnaire on dietary habits (macronutrient and energy verification according to recommendations) and socioeconomic characteristics was applied. Anthropometric data (compared with WHO reference) and pulmonary function data were collected from the medical records. Patients were stratified into age groups for statistical analysis.

Results: Of the 101 patients included in the study, 59.4% were male, with the majority of the white race (86.4%), with median age of 10 years old at inclusion in the study. Although the group analyzed was predominantly eutrophic, lower values of BMI Z score were observed in schoolchildren and adolescents. The proportion of underweight patients increases from 10% to 35% of the pre-school and school age groups, respectively. Dietary intake was adequate, and the use of only two supplements (medium chain triglycerides and complete powdered supplement) were associated with adequacy of macronutrient intake. The socioeconomic characteristics did not show any relation with the nutritional state or nutritional consumption. The Z score of FEV1 were lower in adolescents and individuals with worse nutritional status, but with no significant difference.

Conclusions: Most of the patients evaluated presented adequate nutritional status, and also adequate consumption of calories and macronutrients. New studies with a specific design in preschool children should be performed to assess if it is possible to reduce the nutritional risk of patients with cystic fibrosis at later ages.

INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é uma doença hereditária de caráter autossômico recessivo, que acarreta alterações no transporte de íons e água em células do sistema respiratório, gastrointestinal, hepatobiliar, reprodutivo e glândulas sudoríparas ^{1, 2}. No sistema digestório, a fibrose cística manifesta-se na maioria dos pacientes com insuficiência pancreática exócrina, alterações na motilidade intestinal e presença excessiva de muco nos enterócitos. Todos estes fatores causam má digestão de gorduras, proteínas e carboidratos e consequente má-absorção. A manifestação clínica é de diarreia crônica, com fezes volumosas, gordurosas, pálidas, de odor característico, que se não tratada adequadamente leva à desnutrição energético-proteica ³.

A doença respiratória representa a principal causa de mortalidade dos pacientes, com infecções crônicas e recorrentes e lesões pulmonares progressivas ⁴⁻⁷. Vários estudos já observaram a íntima correlação entre o perfil nutricional e doença respiratória, sendo que um melhor estado nutricional pode melhorar o prognóstico do paciente ^{8, 9}.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil nutricional da população atendida em um centro de referência, a fim de desenvolver estratégias de intervenção oportunas, efetivas e específicas para nossa população.

MÉTODOS

Foram incluídos no estudo todos os pacientes (ou responsáveis) com fibrose cística (diagnosticada por dois testes de cloro no suor com valores indicativos da doença)¹⁰ atendidos no ambulatório do Instituto da Criança – Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (ICr), no período de janeiro a agosto de 2014. Foram critérios de exclusão do estudo: faltas em consultas, não ter aceitado participar, consultas não agendadas no período de coleta, não ser acompanhado neste centro de referência, ou estar hospitalizado. O ICr é um hospital universitário público pediátrico terciário, situado na Zona Oeste de São Paulo e atende crianças e adolescentes de 0 a 19 anos, principalmente pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O atendimento é realizado por equipes multidisciplinares e o intervalo entre consultas varia de acordo com a gravidade do quadro clínico do paciente, mas em geral ocorre a cada 2 ou 3 meses. Após explicação sobre a pesquisa, os pais ou responsáveis manifestaram aceitação em participar através da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido. A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética da Instituição.

Um questionário foi aplicado pela nutricionista aos pais (responsáveis) e pacientes, abrangendo características socioeconômicas (renda, número de pessoas na casa), consumo alimentar (recordatório alimentar do dia anterior, utilização de suplementos alimentares). Na análise do recordatório alimentar do

dia anterior a consulta, foram incluídos apenas os casos com dia de consumo alimentar habitual, excluindo-se os pacientes com dia não-habitual ou com exacerbação pulmonar aguda (segundo critérios da consulta médica).

A renda familiar (obtida em reais) foi transformada em categorias de maior ou menor que um salário mínimo per capita.

Dados de antropometria (peso, estatura), função pulmonar e escore clínico radiológico foram coletados dos prontuários. A antropometria é realizada na consulta médica de forma padronizada (peso em balança eletrônica, sem roupa ou apenas roupas íntimas, estatura aferida por estadiômetro ou régua de madeira em lactentes). Dados da função pulmonar (espirometria) foram obtidos do Registro Brasileiro de Fibrose Cística (pacientes com idade ≥ 6 anos, melhor resultado do ano) e expressos em escore Z do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), utilizando a equação de referencia de Stanojevic et al.^{10, 11} O estado clínico geral do paciente foi aferido pelo Escore de Schwachman-Kulczcki, que é feito anualmente no mês de aniversário do paciente¹².

Os pacientes foram classificados para o estado nutricional de acordo com o programa Anthro e Anthro Plus da OMS^{13, 14}, onde foram obtidos dados de escore Z do peso para idade, altura para idade, índice de massa corporal (IMC) para idade.

Os registros de quantidade de calorias e macronutrientes foram calculados através do programa NutWin¹⁵. A análise do consumo alimentar foi realizada com base nos valores preconizados para cada paciente pelo *Institute of Medicine*¹⁶, utilizando-se as recomendações nutricionais das crianças saudáveis com acréscimo de 20% às calorias necessárias e distribuição recomendada para fibrose cística:

40% das calorias de carboidratos; 15% das calorias de proteínas; 35% das calorias de lipídios ^{1, 17}. Foram considerados para análise os percentuais de adequação do consumo real em relação às recomendações (100% de adequação indica consumo igual às recomendações). Os suplementos ou módulos alimentares utilizados foram considerados nas análises de adequação de macronutrientes de acordo com as suas características nutricionais (por exemplo, Triglicérides de cadeia média (TCM) só foi considerado para adequação de calorias e lipídios) e faixa etária indicada.

Os dados obtidos foram tabulados no programa Microsoft Excel versão 2010 e analisados por estatísticas descritivas (medianas, percentis 25 e 75) com os softwares SPSS versão 19 e Stata versão 11. Os pacientes foram classificados em faixas etárias, sendo considerados lactentes os pacientes com idade inferior a 2 anos, pré-escolares aqueles entre 2 e 5 anos (incompletos), escolares entre 5 e 10 anos (incompletos), e adolescentes os com idade superior a 10 anos. As variáveis foram testadas em sua normalidade de distribuição e para variáveis que não tinham distribuição normal foram utilizados testes não paramétricos (Kruskal-Wallis). As análises de associações entre variáveis categóricas contemplaram testes de qui-quadrado e Fisher, para análises de variáveis contínuas foram utilizadas análises de testes t e ANOVA. O nível de significância de 0,05 foi considerado para rejeição da hipótese nula.

RESULTADOS

Foram coletados dados de 101 pacientes de um total aproximado de 138 em seguimento. Dados coletados de prontuários sobre características clínicas dos

pacientes comprovam que as perdas não diferiram estatisticamente dos pacientes analisados (dados não apresentados).

Dos pacientes incluídos, 59,4% eram do gênero masculino ($n=60$), sendo a maioria da raça branca (86,4%), e a mediana de idade na inclusão foi de 10 anos; já a idade mediana ao diagnóstico foi de 8 meses.

A maior parte dos pacientes incluídos no estudo foi classificada como eutrófica, com escore Z do IMC (zIMC) entre -1 e +1, mas valores menores foram observados nas faixas etárias de escolares e adolescentes (Tabela 1).

No que diz respeito ao consumo alimentar, a ingestão relatada foi considerada adequada para a maior parte dos pacientes, ainda que com excesso de carboidratos como fonte calórica em boa parte deles (Tabela 2). No que se refere ao uso de suplementos ou módulos nutricionais, não se observa diferenças entre o uso nas diferentes faixas etárias, ainda que alguns sejam indicados apenas para faixas etárias específicas. É possível notar maior frequência de utilização em escolares e adolescentes (Tabela 3). Na avaliação de associação entre consumo de suplemento ou módulo nutricional e adequação na ingestão de macronutrientes (análise categorizada se atinge recomendação ou não – teste de qui-quadrado), o uso de TCM foi associado com adequação da ingestão de lipídios ($p=0,010$) e o uso de suplemento em pó completo associado à ingestão adequada de proteínas ($p=0,003$) e lipídios ($p=0,010$).

Analisando as categorias de classificação do estado nutricional de acordo com as faixas etárias, observa-se que enquanto nenhum lactente apresentou déficit ponderal, na faixa etária pré-escolar há cerca de 10% de pacientes com perfil nutricional abaixo do esperado, proporção que aumenta significativamente

nos escolares (35,3%) e adolescentes (33,3%), figura 1. As categorias de estado nutricional não foram associadas a piores valores de adequação nutricional às recomendações de calorias e macronutrientes ou consumo de suplementos/módulos nutricionais.

Os dados de função pulmonar, disponíveis apenas para escolares e adolescentes, mostram valores de VEF1 menores em adolescentes (figura 2), porém sem diferença significativa do ponto de vista estatístico ($p=0,182$). Observando os valores de função pulmonar de acordo com as categorias de diagnóstico nutricional, observa-se valores reduzidos em indivíduos com peso abaixo do esperado, mas novamente sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,072$).

A renda familiar não demonstrou associação com o estado nutricional ou com adequação de consumo de energia e macronutrientes.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o estado nutricional da maioria dos pacientes deste Centro é eutrófico, com um consumo alimentar adequado. A prevalência de estado nutricional abaixo do esperado, entretanto, aumenta progressivamente com a idade, com acentuado incremento entre a faixa etária pré-escolar e escolar. Isso indica que abordagens direcionadas para a faixa etária pré-escolar podem ser de grande importância para preservação da saúde nutricional dos pacientes com FC.

A importância da nutrição na saúde de pacientes com fibrose cística já está bem estabelecida na literatura ¹⁷⁻¹⁹, e diversos estudos apontaram a

adolescência como a faixa etária mais problemática em termos nutricionais, com associação significativa a piores desfechos clínicos e funcionais ²⁰. O presente estudo, entretanto, ilustra a importância de uma atuação mais precoce e com enfoque nos pré-escolares, fase reconhecidamente difícil para alimentação ²¹.

As famílias com pré-escolares com fibrose cística enfrentam dificuldades para prover um aporte nutricional adequado e manter o regime de tratamento da doença pulmonar, visando garantir o crescimento ideal. Nesta fase, a infecção e inflamação das vias aéreas podem ocorrer de forma pouco sintomática, resultando em danos estruturais ²². Alguns dos grandes desafios para estas famílias são os comportamentos alimentares inadequados próprios desta fase da infância, que podem levar a desfechos indesejáveis nas metas de peso e estatura ²². Por outro lado, por vezes a ansiedade dos pais e expectativas mal dimensionadas leva a um agravamento da recusa alimentar nesta faixa etária (21).

São alguns exemplos de estratégias comportamentais apontadas para aumentar a ingestão energética e melhorar o crescimento nesta faixa etária: apresentar alimentos novos 10 a 12 vezes mesmo que criança recuse inicialmente, limitar o tempo das refeições em 15 a 30 minutos, aumentar as calorias das refeições gradativamente, fazer pequenas refeições nos horários de lanches, elogiar comportamentos alimentares apropriados, evitar distrações nas refeições, diversificar a apresentação das preparações, evitar petiscos e incentivar a participação efetiva dos pais ^{18, 23}.

Alguns estudos anteriores de nutrição em FC realizados no Brasil mostraram resultados distintos, possivelmente por conta de disponibilidade variável de

recursos terapêuticos e nutricionais nas diversas regiões brasileiras. Em um estudo transversal realizado no Nordeste, por exemplo, Pinto e colaboradores (2009) descrevem pior estado nutricional em pacientes com situação socioeconômica mais desfavorável ²⁴. Mesmo neste mesmo Centro, em estudo realizado há 12 anos, os autores observaram uma proporção maior de pacientes com peso abaixo do esperado e de ofertas nutricionais inadequadas ⁹. Esta mudança de perfil nutricional dos pacientes com fibrose cística é observada também em outros países ²⁵, e provavelmente decorre de fatores como diagnóstico mais precoce, monitorização mais rigorosa e maior acesso a medicamentos e suplementos nutricionais.

Apesar da diversidade de opções de suplementos e módulos nutricionais disponíveis para os pacientes do estudo, verificamos que os únicos cuja utilização esteve associada à adequação de consumo de macronutrientes foram o TCM e suplemento em pó completo, sendo estes utilizados mais frequentemente na primeira infância.

Este estudo tem diversas limitações. A escolha de um desenho de estudo transversal não possibilita explicações temporais ou causais nas complicações do estado nutricional, sendo possível estimar apenas prevalências maiores de déficit do estado nutricional em idades mais avançadas. O genótipo e o perfil de colonização do trato respiratório não foram avaliados e são reconhecidamente fatores que afetam o estado nutricional.

A realização de medidas antropométricas que não discernem a composição corporal pode mascarar o diagnóstico de déficit de massa magra, com consequente prejuízo pulmonar. Sendo assim, a presença de peso acima do

esperado em 12,9% da amostra pode não ser acompanhado de uma melhora na função pulmonar. Um estudo de um centro de referência de FC na Grécia relatou para uma prevalência semelhante à encontrada no presente estudo de pacientes com sobrepeso e obesidade ²⁶. É possível que as recomendações de dieta hipercalórica e hipergordurosa causem efeitos indesejados em alguns pacientes, de modo que as recomendações e o tratamento nutricional devem ser individualizados ²⁷.

Em suma, os dados apresentados neste estudo mostram que a atuação de equipe multidisciplinar de forma antecipada ao declínio de estado nutricional e a disponibilidade de medicamentos, suplementos e módulos nutricionais é fundamental, e vem dando resultados. Por outro lado, foi possível perceber a importância de uma abordagem distinta dos pacientes na faixa etária pré-escolar, que parece ser um momento sensível e de impacto em desfechos nutricionais destes pacientes. Estratégias adicionais educativas, incluindo atividades para pais e crianças e materiais gráficos, vídeos ou recursos de mídias digitais ²⁸ podem contribuir bastante neste cenário.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. J Cyst Fibros. 2002;1(2):51-75.
2. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. N Engl J Med. 2005;352(19):1992-2001.
3. Infante Pina D, Redecillas Ferreiro S, Torrent Vernetta A, Segarra Canton O, Maldonado Smith M, Gartner Tizziano L, et al. [Improvement of

intestinal function in cystic fibrosis patients using probiotics]. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69(6):501-5.

4. Ratjen F, Doring G, Nikolaizik WH. Effect of inhaled tobramycin on early *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in patients with cystic fibrosis. *Lancet*. 2001;358(9286):983-4.

5. Pitts J, Flack J, Goodfellow J. Improving nutrition in the cystic fibrosis patient. *J Pediatr Health Care*. 2008;22(2):137-40.

6. Ambrosio VLS, Palchetti CZ, Neri LdCLN, Nicolosi SPZ, Silva VN, Simões APB, et al. Diretrizes Nutricionais da Fibrose Cística do Estado de São Paulo. In: Saúde SdEd, editor. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo; 2012. p. 120.

7. Madan JC, Koestler DC, Stanton BA, Davidson L, Moulton LA, Housman ML, et al. Serial Analysis of the Gut and Respiratory Microbiome in Cystic Fibrosis in Infancy: Interaction between Intestinal and Respiratory Tracts and Impact of Nutritional Exposures. *Mbio*. 2012;3(4):10.

8. Corey M, McLaughlin FJ, Williams M, Levison H. A comparison of survival, growth, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto. *J Clin Epidemiol*. 1988;41(6):583-91.

9. Adde FV, Rodrigues JC, Cardoso AL. Nutritional follow-up of cystic fibrosis patients: the role of nutrition education. *J Pediatr (Rio J)*. 2004;80(6):475-82.

10. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through

older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. J Pediatr. 2008;153(2):S4-S14.

11. Stanojevic S, Wade A, Cole TJ, Lum S, Custovic A, Silverman M, et al. Spirometry centile charts for young Caucasian children: the Asthma UK Collaborative Initiative. Am J Respir Crit Care Med. 2009;180(6):547-52.

12. Shwachman H, Kulczycki LL. Long-term study of 105 patients with cystic fibrosis Am J Dis Child. 1958;96:6-15.

13. Blössner M. Anthro - Software for assessing growth and development of the world's children In: Development. DoNfHa, editor. <http://www.who.int/childgrowth/software/en/>: World Health Organization; 2011.

14. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia. Avaliação nutricional da criança e do adolescente: manual de orientação. São Paulo: SBP; 2009.

15. Anção MS, Cuppari L, Draibe SA, Sigulem D. NutWin versão 1.5. São Paulo: Unifesp; 2002.

16. Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. Washington: Institute of Medicine: National Academy; 2000.

17. Borowitz D, Baker RD, Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002;35(3):246-59.

18. Turck D, Braegger CP, Colombo C, Declercq D, Morton A, Pancheva R, et al. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. Clin Nutr. 2016;35(3):557-77.

19. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. *J Am Diet Assoc.* 2008;108(5):832-9.
20. Megias MC, Vasco PG, Albarran OG, Ferreiro AL, Carro LM. Association of the relative change in weight and body mass index with lung function in teenagers and adults with cystic fibrosis: Influence of gender and diabetes. *Endocrinologia Y Nutricion.* 2015;62(9):422-9.
21. Leung AK, Marchand V, Sauve RS, Canadian Paediatric Society NtaGC. The 'picky eater': The toddler or preschooler who does not eat. *Paediatr Child Health.* 2012;17(8):455-60.
22. Lahiri T, Hempstead SE, Brady C, Cannon CL, Clark K, Condren ME, et al. Clinical Practice Guidelines From the Cystic Fibrosis Foundation for Preschoolers With Cystic Fibrosis. *Pediatrics.* 2016;137(4):26.
23. Borowitz D, Robinson KA, Rosenfeld M, Davis SD, Sabadosa KA, Spear SL, et al. Cystic Fibrosis Foundation evidence-based guidelines for management of infants with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2009;155(6 Suppl):S73-93.
24. Pinto ICD, da Silva CP, de Britto MCA. Nutritional, clinical and socioeconomic profile of patients with cystic fibrosis treated at a referral center in northeastern Brazil. *Jornal Brasileiro De Pneumologia.* 2009;35(2):137-43.
25. Gaskin KJ. Nutritional care in children with cystic fibrosis: are our patients becoming better? *European Journal of Clinical Nutrition.* 2013;67(5):558-64.

26. Panagopoulou P, Maria F, Nikolaou A, Nousia-Arvanitakis S. Prevalence of Malnutrition and Obesity Among Cystic Fibrosis Patients. *Pediatr Int*. 2013.
27. Hanna RM, Weiner DJ. Overweight and obesity in patients with cystic fibrosis: a center-based analysis. *Pediatr Pulmonol*. 2015;50(1):35-41.
28. McDonald CM, Haberman D, Brown N. Self-efficacy: Empowering parents of children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2013;12(5):538-43.

Tabela 1: Descrição das características sócio demográficas, dados antropométricos e clínicos, por faixa etária dos pacientes com fibrose cística incluídos no estudo (n=94).

VARIÁVEIS Mediana (p25 /	lactente (n=9)	pré-escolar (n=23)	escolar (n=18)	adolescente (n=51)	Valor de p
Idade ao óstico (anos)	0,16 (0,11 / 0,61)	0,45 (0,22 / 1,19)	0,42 (0,28 / 2,17)	1,22 (0,53 / 4,69)	0.007***
Renda familiar <i>apita</i>)	708 (262 / 1250)	500 (270 / 1000)	792 (500 / 1481)	431 (294 / 859)	0.455
Escore Z PE	0,68 (-0,35 / 1,48)	-0,24 (-0,72 / 0,27)	-0,78 (-1,16 / 0,43)	-	0.142
Escore Z PI	-0,18 (-1,08 / 0,80)	-0,47 (-1,01 / 0,06)	-0,88 (-1,19 / 0,26)	-1,26 (-1,26 / -1,25)	0.517
Escore Z EI	-0,99 (-2,24 / 0,11)	-0,50 (-1,19 / -0,02)	-0,52 (-0,78 / 0,06)	-0,85 (-1,75 / -0,35)	0.057
Escore Z IMC	0,85 (-0,09 / 1,48)	-0,20 (-0,70 / 0,24)	-0,85 (-1,52 / 0,54)	-0,50 (-1,10 / 0,48)	0.027*
Escore achman-Kulczcki	90 (85 / 95)	85 (75 / 95)	80 (75 / 85)	75 (55 / 80)	<0,001**
Tempo de ação no último ano	15 (3 / 82)	7 (3,38 / 9,75)	13 (2,5 / 39,8)	14 (7 / 49,5)	0.3
Escore Z VEF1	-	-	-0,24 (-2,82 / 0,64)	-2,44 (-3,94 / -0,86)	0.199

Escore Z P/E= escore Z do índice de peso para estatura; Escore Z P/I= escore Z do índice de peso para idade; Escore Z E/I= escore Z do índice de estatura para idade; Escore Z IMC= escore Z do índice de massa corporal para idade; Escore Z de VEF1= escore Z do volume expiratório forçado no primeiro segundo. * ANOVA. *Teste post-hoc Bonferroni: p=0,049 apenas na comparação das faixas etárias lactente e adolescente, sendo as comparações restantes não significativas.* ** ANOVA. *Teste post-hoc Bonferroni: p=0,001 para pré-escolares e adolescentes; p=0,012 para lactentes e escolares; p<0,001 para lactentes e adolescentes, p=0,035 para escolares e adolescentes e comparações restantes não significativas.* *** ANOVA. *Teste post-hoc Bonferroni: p=0,049 na comparação das faixas etárias lactente e adolescente e comparações restantes não significativas.*

Tabela 2: Adequação reportada do consumo de macronutrientes (percentual do valor recomendado para pacientes com fibrose cística), de acordo com a faixa etária dos pacientes incluídos no estudo (n=94).

	lactente (n=9)	pré-escolar (n=23)	escolar (n=18)	adolescente (n=51)	Valor de p*
Adequação do consumo					
macronutrientes mediana (p75)					
Calorias	109% (86 / 120)	117% (97 / 125)	100% (78 / 130)	111% (84 / 137)	0.629
Carboidratos	132% (62 / 165)	130% (93 / 159)	119% (96 / 156)	146% (111 / 179)	0.224
Proteínas	88% (77 / 156)	134% (102 / 171)	111% (91 / 154)	107% (95 / 138)	0.816
Lipídios	93% (65 / 107)	109% (92 / 132)	111% (60 / 128)	87% (71 / 112)	0.588

* Teste de ANOVA.

Figura 1: Classificação dos pacientes com fibrose cística de acordo com estado nutricional em categorias do escore Z de IMC e faixa etária. Teste de qui-quadrado de Pearson, $p=0,075$.

Figura 2: Gráficos de box-plot demonstrando valores de escore Z do VEF1 de acordo com as faixas etárias escolar e adolescente (A) e de acordo com as categorias de estado nutricional (B).

4 CONCLUSÕES

Diversos estudos ressaltam a importância da nutrição adequada para melhora na função pulmonar e prognóstico dos pacientes com fibrose cística.^{3, 14, 30}. A oferta adequada de macro e micronutrientes garante o a adequada massa muscular e por consequência o funcionamento da musculatura respiratória e elasticidade pulmonar¹⁰.

Sendo assim, diversas estratégias nutricionais vem sendo apontadas para cada fase da vida^{15, 31, 32}. O estudo de avaliação nutricional de pacientes do Instituto da Criança - HCFMUSP, apresentado nesta dissertação, ressaltou a necessidade de atenção especial na alimentação de crianças em faixa etária pré-escolar para prevenção do prejuízo do estado nutricional em idades posteriores. Este resultado, embora tenha o caráter inédito, está de acordo com o que vem sendo apontado em recomendações internacionais com cuidados especiais para esta faixa etária³³.

O estado nutricional deve ser acompanhado de maneira intensiva pela equipe multidisciplinar em todos centros de referência de tratamento de fibrose cística para que intervenções precoces ou estratégias preventivas sejam tomadas antes da deterioração do estado nutricional destes pacientes.

Além disso, novas áreas promissoras da nutrição estão abrindo novas perspectivas no tratamento destes pacientes. Sabe-se que a microbiota intestinal (formada até a faixa etária de pré-escolares) tem um papel essencial nas funções

imunológicas e metabólicas e isto trará consequências para toda a vida. Em fibrose cística, recentemente estabeleceu-se a relação da colonização intestinal e a colonização do trato respiratório, sendo a colonização intestinal prévia a respiratória, o que abre uma possível oportunidade de intervenções clínicas e prevenção de exacerbações pulmonares.

O mecanismo envolvido nesta relação ainda está por esclarecer, mas devido a má-digestão de macronutrientes com consequente supercrescimento bacteriano no intestino de pacientes com fibrose cística, além de tratamentos frequentes com antibióticos, ambos fatores que contribuem para a disbiose em fibrose cística que por sua vez podem alterar a microbiota respiratória por comunicação e modulação da resposta imune destas mucosas.

O estudo apresentado com revisão sistemática e metanálise das publicações científicas com uso de probióticos e simbióticos em fibrose cística veio confirmar o papel protetor destes agentes nutracêuticos nas exacerbações pulmonares e inflamação intestinal.

A despeito da consideração importante que novos estudos devem ser realizados com estratégias de suplementação de probióticos de maneira padronizada quanto a cepas utilizadas, dosagem, duração e idade de administração dos probióticos, acredita-se que o efeito positivo observado neste estudo tende a ser potencializado com a padronização metodológica, podendo melhorar até o estado nutricional destes pacientes.

Como conclusões finais dos dois artigos apresentados nesta dissertação podemos acreditar que a prevenção, através de estratégias comportamentais e nutricionais adequadas em crianças em faixa etária pré-escolar, além da

realização de possíveis intervenções clínicas para adequada colonização da microbiota intestinal em idade precoce, possibilita abertura de novos horizontes no tratamento da futura geração de pacientes com fibrose cística.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística. Registro brasileiro de fibrose cística: relatório anual 2014. [citado 2017 Jan 30]. Disponível em: http://portalgbefc.org.br/wp-content/uploads/2016/11/Registro2014_v09.pdf.
2. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2005;352(19):1992-2001.
3. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros*. 2002;1(2):51-75.
4. Ratjen F, Döring G, Nikolaizik WH. Effect of inhaled tobramycin on early *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in patients with cystic fibrosis. *Lancet*. 2001;358(9286):983-4.
5. Pitts J, Flack J, Goodfellow J. Improving nutrition in the cystic fibrosis patient. *J Pediatr Health Care*. 2008;22(2):137-40.
6. Ambrosio VL, Palchetti CZ, Neri LC, Nicolosi SP, Silva VN, Simões AP, et al. Protocolo de atendimento nutricional em fibrose cística. [citado em 2017 Jan 30]. Disponível em: http://www.spsp.org.br/spsp_2008/download/Protocolo%20-%20Fibrose.pdf.
7. Madan JC, Koestler DC, Stanton BA, Davidson L, Moulton LA, Housman ML, et al. Serial analysis of the gut and respiratory microbiome in cystic fibrosis in infancy: interaction between intestinal and respiratory tracts and impact of nutritional exposures. *Mbio*. 2012;3(4):e00251-12.

8. Infante Pina D, Redecillas Ferreiro S, Torrent Vernetta A, Segarra Cantón O, Maldonado Smith M, Gartner Tizziano L, et al. Optimización de la función intestinal en pacientes con fibrosis quística mediante la administración de probióticos. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69(6):501-5.
9. Schindler T, Michel S, Wilson AW. Nutrition management of cystic fibrosis in the 21st Century. *Nutr Clin Pract*. 2015;30(4):488-500.
10. Gaspar MC, Chiba SM, Gomes CE, Juliano Y, Novo NF, Ancona-Lopez F. Results of nutritional intervention in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr (Rio J)*. 2002;78(2):161-70.
11. Ziegler B, Rovedder PM, Lukrafka JL, Oliveira CL, Menna-Barreto SS, Dalcin PT. Submaximal exercise capacity in adolescent and adult patients with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol*. 2007;33(3):263-9.
12. Oliveira G, Oliveira C. Nutrición, fibrosis quística y aparato digestivo. *Nutr Hosp*. 2008;23 Suppl 2:71-86.
13. Neri LC. Fibrose cística. In: Silva AP, Nascimento AG, Santos PZ, editores. *Manual de dietas e condutas nutricionais em pediatria*. São Paulo: Atheneu; 2014. p. 363-9.
14. Borowitz D, Baker RD, Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;35(3):246-59.
15. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. *J Am Diet Assoc*. 2008;108(5):832-9.

16. Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2:104.
17. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London: FAO: WHO;2002.
18. Gibson G, Roberfroid M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995;125(6):1401-12.
19. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(11):CD004827.
20. Morais MB, Jacob CM. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. *J Pediatr (Rio J).* 2006;82(5 Suppl):S189-97.
21. Bruzzese E, Raia V, Spagnuolo MI, Volpicelli M, De Marco G, Maiuri L, et al. Effect of *Lactobacillus GG* supplementation on pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: a pilot study. *Clin Nutr.* 2007;26(3):322-8.
22. Higgins JP, Green S., editors. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* 5.1.0. [cited 2017 Jan 30]. Disponível em: <http://training.cochrane.org/handbook>.
23. Anção MS, Cuppari L, Draibe SA, Sigulem D. *NutWin versão 1.5*. São Paulo: Unifesp; 2002.
24. Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. Washington: Institute of Medicine: National Academy; 2000.

25. Blössner M. Anthro - Software for assessing growth and development of the world's children. [cited 2017 Jan 30]. Available: <http://www.who.int/childgrowth/software/en/>; World Health Organization; 2011.
26. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia. Avaliação nutricional da criança e do adolescente: manual de orientação. São Paulo: SBP; 2009.
27. Turck D, Braegger CP, Colombo C, Declercq D, Morton A, Pancheva R, et al. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clin Nutr*. 2016;35(3):557-77.
28. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(9):920-4.
29. *Review Manager (RevMan)*.version 5.3 [cited 2017 Jan 30] Available: <http://community.cochrane.org/tools/review-production-tools/revman-5>. *The Nordic Cochrane Centre*; 2014.
30. Nasr SZ, Drury D. Appetite stimulants use in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(3):209-19.
31. Edenborough FP, Borgo G, Knoop C, Lannefors L, Mackenzie WE, Madge S, et al. Guidelines for the management of pregnancy in women with cystic fibrosis. *J of Cyst Fibros*. 2008;7 Supp 1:S2-32.
32. Powers SW, Patton SR, Byars KC, Mitchell MJ, Jelalian E, Mulvihill MM, et al. Caloric intake and eating behavior in infants and toddlers with cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2002;109(5):E75-5.

33. Lahiri T, Hempstead SE, Brady C, Cannon CL, Clark K, Condren ME, et al. Clinical practice guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation for Preschoolers With Cystic Fibrosis. *Pediatrics*. 2016;137(4):26.

ANEXO A - Aprovação do comitê de ética do Instituto de Medicina Tropical

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil - e-mail: cpq-imt@usp.br
Telefones: (55) 11-3061-8650, FAX (55) 11-3064-5132

São Paulo, 28 de Julho de 2014

Ilmo(a)
Dr(a). Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho
(aos cuidados de Lenyia de Cassya Lopes Neri)

A Comissão de Pesquisa e Ética do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, tomou ciência do projeto classificado sob o número CPE-IMT 000266 e intitulado '**Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos e simbióticos em fibrose cística e perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança HCFMUSP**'
O projeto deverá ser enviado ao Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para aprovação final.

Atenciosamente,

Dr. Expedito José de Albuquerque Luna
Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética do IMT-USP

ANEXO B - Aprovação do comitê de ética do Instituto da Criança

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo está ciente e de acordo com o Projeto de Pesquisa intitulado: "Revisão sistemática da literatura sobre o uso de probióticos e simbióticos em fibrose cística e perfil nutricional dos pacientes acompanhados no Instituto da Criança HCFMUSP" de Lenyca de Cassya Lopes Neri e Luiz Vicente Ribeiro da Silva Filho.

Este projeto de pesquisa tem por objetivo realizar revisão sistemática das publicações científicas sobre o uso de pré, pró e simbióticos em fibrose cística.

São Paulo, 01 de agosto de 2016.

Prof. Dr. Joaquim Carlos Rodrigues
Chefe do Serviço de Pneumologia
ICr-HCFMUSP

Profa. Dra. Sonia Regina T.S. Ramos
Coordenadora do Corpo de
Pareceristas
Departamento de Pediatria FMUSP

Prof. Llenis Cammuri
Presidente CPE
Departamento de Pediatria
FMUSP

Profa. Sandra J.F.E. Grisi
Chefe do Departamento de
Pediatria da FMUSP

ANEXO C – Submissão manuscrito 1 para revista NUTRITION RESEARCH AND PRACTICE

Nutrition Research and Practice <nutritionrp@hanmail.net>
Para: lenydia@gmail.com

30 de janeiro de 2017 10:13

Nutrition Research and Practice

Tel: 82-2-3452-0433 (KNS) 82-2-749-0745 (KSCN)
Fax: 82-2-3452-3018 (KNS) 82-2-749-0746 (KSCN)
e-mail : nutritionrp@hanmail.net
http://e-nrp.org

Author's Initial submission

Dear LENYDIA DE CASSYA LOPES NERI

Initial submission of manuscript has been completed by author.

■ Manuscript Information ■

Manuscript Title	Date Received	Manuscript ID
PROBIOTICS AND CYSTIC FIBROSIS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS	2017-01-30 21:16:09	

- Web Site : <http://www.nrpsubmit.org>

2017-01-30
Nutrition Research and Practice
Editor-In-Chief

The Korean Nutrition Society
Rm. 804, The Korean Science and Technology Center
635-4 Yeoksam1-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-703, Korea
Tel: 82-2-3452-0433 Fax : 82-2-3452-3018
E-mail : kns@kns.or.kr <http://www.kns.or.kr>

The Korean Society of Community Nutrition
904 Hyundai Hyet, 2-36 Hangangno 2-ga,
Yongsan-gu, Seoul 140-871, Korea
Tel: 82-2-749-0745 Fax : 82-2-749-0746
E-mail : kscn2009@hanmail.net <http://www.koscom.or.kr>

ANEXO D – Submissão manuscrito 2 para revista JORNAL DE PEDIATRIA

Jornal de Pediatria <EvisSupport@elsevier.com>
Responder a: jped@elsevier.com
Para: lenyia@gmail.com

31 de janeiro de 2017 13:46

Dear Mrs. NERI,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Jornal de Pediatria

Title: PRÉ-ESCOLARES: CHAVE PARA MANUTENÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL EM FIBROSE CÍSTICA?

Corresponding Author: Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho

Co-Authors: LENYCIA NERI, Denise Bergamaschi

Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, EVISE®. If you are not already registered in EVISE®, please take a moment to set up an author account by navigating to http://www.evis.com/evis/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=JPED

If you already have an ORCID, we invite you to link it to this submission. If the submission is accepted, your ORCID will be transferred to ScienceDirect and CrossRef and published with the manuscript.

To link an existing ORCID to this submission, or sign up for an ORCID if you do not already have one, please click the following link: [Link ORCID](#)

What is ORCID?

ORCID is an open, non-profit, community-based effort to create and maintain a registry of unique researcher identifiers and a transparent method of linking research activities and outputs to these identifiers.

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our ORCID help page: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at vicres@usp.br.

Thank you,
Jornal de Pediatria

This message was sent automatically. Please do not reply