

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Impacto do consumo de alimentos ultraprocessados na
microbiota intestinal na infância.**

Lucas Damasio Faggiani

Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentada ao Programa de Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora: Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

**São Paulo
2023**

Impacto do consumo de alimentos ultraprocessados na microbiota intestinal na infância.

Lucas Damasio Faggiani

Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentada ao Programa de Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora: Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

**Versão revisada
São Paulo
2023**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Damasio Faggiani, Lucas

Impacto do consumo de alimentos ultraprocessados na microbiota intestinal na infância. / Lucas Damasio Faggiani; orientador Marly Augusto Cardoso. -- São Paulo, 2023.

142 p.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2023.

1. microbiota intestinal. 2. práticas alimentares. 3. aleitamento materno. 4. saúde materno-infantil. 5. coorte.
I. Augusto Cardoso, Marly, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

À luta para uma sociedade mais justa, em que a alimentação adequada seja vista como direito humano essencial.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elaine e Angelo, por todo amor e apoio incondicionais, bem como o incentivo, desde pequeno, à educação como ferramenta de transformação humana e social. Ser filho de vocês é uma honra e um presente divino!

À Rafaela, minha companheira desde meu primeiro ano de graduação, que esteve ao meu lado em vários momentos de dificuldade, angústia e incerteza, mas sempre tornando essas situações mais amenas pelo amor que nutrimos um pelo outro. Muito obrigado por tudo, meu anjo!

À Marly, que confiou em mim logo no começo da minha formação (2º ano de graduação - 2017), me propiciando oportunidades fantásticas para aprendizado e desenvolvimento do senso crítico, enquanto cientista e ser humano. Sou muito grato a você por toda jornada!

À Paula de França, minha supervisora de coração, que, com enorme generosidade e expertise na área de Biologia, ensinou-me desde os primeiros passos até as análises finais de bioinformática deste trabalho. Nossas conversas tem um valor inestimável para mim e foi um prazer trabalhar com você!

À equipe do Estudo MINA-Brasil, por todo empenho e profissionalismo desde as etapas de sua concepção até aqui, que garantem a transparência e qualidade científica de tudo que o MINA já produziu e ainda produzirá.

Às crianças e famílias de Cruzeiro do Sul/Acre, por acreditarem na equipe e nos valores que formam o Estudo MINA-Brasil, muitas vezes realizando inúmeros esforços para continuarem sendo parte dele. Espero que esse trabalho possa contribuir, de forma direta ou indireta, na saúde dessa população, a qual tenho enorme respeito e carinho!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), que fomentou esse trabalho por meio da bolsa de mestrado PROEX (processo CAPES nº 88887.638834/2021-00).

FONTES DE FINANCIAMENTO

Esta dissertação de mestrado integra um conjunto de pesquisas epidemiológicas sobre condições de saúde e nutrição materno-infantil em Cruzeiro do Sul, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira: Materno-Infantil no Acre (MINA-Brasil), coordenado por pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) em colaboração com a Universidade Federal do Acre (UFAC) e a *Harvard T. H. Chan School of Public Health* (HSPH). Com auxílio do Programa Ciência Sem Fronteiras, Chamada no 71/2013 do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o Estudo MINA-Brasil foi contemplado com auxílio à pesquisa e uma Bolsa Pesquisador Visitante Especial (PVE) para a Profa. Dra. Márcia Caldas de Castro da HSPH (processo CNPq n° 407255/2013-3). Em 2015, recursos adicionais foram concedidos pela Fundação Maria Cecília Souto Vidigal e na Chamada PPSUS 001/2015 FAPAC – Programa Pesquisa para o SUS: Gestão Compartilhada em Saúde FAPAC/SESACRE/PPSUS MS/CNPq e, em 2017, pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) na modalidade de auxílio temático à pesquisa (processo FAPESP no 2016/00270-6). O presente trabalho foi realizado com apoio de bolsa de mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – PROEX (processo CAPES n° 88887.638834/2021-00).

Membros da Coordenação MINA-Brazil Study Working Group

Marly Augusto Cardoso (Coordenadora), Bárbara Hatzlhoffer Lourenço, Maíra B. Malta, Paulo A. R. Neves (Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública, USP), Alícia Matijasevich Manitto (Departamento de Medicina Preventiva, Faculdade de Medicina, USP), Marcelo Urbano Ferreira (Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, USP), Ana Alice de Araújo Damasceno, Bruno Pereira da Silva e Rodrigo Medeiros de Souza (Universidade Federal do Acre – UFAC, Campus Floresta), Márcia Caldas de Castro (*Department of Global Health and Population*, HSPH) e Simone Ladeia Andrade (Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ).

RESUMO

FAGGIANI, L. D. **Impacto do consumo de alimentos ultraprocessados na microbiota intestinal na infância.** Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Objetivo: Investigar o impacto do consumo de alimentos ultraprocessados (AUP) na diversidade da microbiota intestinal no primeiro ano de vida dos participantes do Estudo MINA-Brasil.

Métodos: O estudo foi realizado com participantes do seguimento de um ano da coorte de nascimento de base populacional Estudo MINA-Brasil, com coleta de microbiota intestinal (n=728). O consumo alimentar foi medido por recordatório alimentar semiestruturado referente à alimentação no dia anterior à entrevista. Uma variável combinada de aleitamento materno e AUP foi gerada (mama sim/não; AUP sim/não), considerando “sim” o consumo de ao menos um AUP (macarrão instantâneo, salgadinhos, embutidos, bebidas açucaradas e guloseimas). Um modelo hierárquico conceitual foi utilizado para seleção de covariáveis segundo níveis de determinação ($p < 0,05$) nos modelos múltiplos finais. Coeficientes de regressão mediana com ajuste múltiplo (IC95%) foram analisados com a diversidade alfa da microbiota intestinal como variável dependente. A diversidade beta da microbiota intestinal foi analisada por PCoA e PERMANOVA. A abundância diferencial foi realizada por ANCOM-BC e árvore de calor filogenética, corrigida por FDR. Análises foram realizadas nos softwares Stata 16.0 e R.

Resultados: O consumo de embutidos, salgadinhos e macarrão instantâneo (≥ 1 vez/dia) ou de qualquer tipo de AUP (≥ 2 vezes/dia) foi positivamente associado aos parâmetros de alfa diversidade. Crianças desmamadas que consumiam AUP associaram-se positivamente aos parâmetros de alfa diversidade, em relação ao grupo de crianças amamentadas que não consumiam AUP. O consumo de AUP não se associou à filogenia, sendo distinta apenas entre grupos de práticas de aleitamento materno contrastantes (mama sim ou não), segundo análises de beta diversidade e árvore de calor de abundância diferencial filogenética. Apesar disso, a prática de consumo de AUP induziu diferenças na diversidade e abundância dentro dos mesmos ramos filogenéticos. **Conclusão:** O aleitamento materno conseguiu atenuar o impacto do consumo de AUP, sendo observadas diferenças nos parâmetros de diversidade e abundância dos mesmos ramos filogenéticos, protegendo a microbiota intestinal de uma maturidade precoce no primeiro ano de vida.

Descritores: microbiota intestinal; dieta; criança; coorte; saúde pública.

ABSTRACT

FAGGIANI, L. D. **Impact of ultra-processed foods consumption on the infant gut microbiota.** School of Public Health, University of São Paulo, São Paulo, 2023.

Objective: To investigate the impact of consumption of ultra-processed foods (UPF) on the diversity of the gut microbiota in the first year of life of participants in the MINA-Brasil Study.

Methods: The study was carried out with participants from the one-year follow-up of the population-based birth cohort Study MINA-Brazil, with gut microbiota collection (n=728). Diet was measured using a semi structured questionnaire referring to the diet on the day before the interview. A combined variable of breastfeeding and UPF was generated (breastfeeding yes/no; UPF yes/no), considering “yes” the consumption of at least one UPF (instant noodles, snacks, sausages, sugary drinks and candy). A conceptual hierarchical model was used to select covariates according to levels of determination ($p < 0.05$) in the final multiple models. Median regression coefficients with multiple adjustment (95% CI) were analyzed with alpha diversity of the gut microbiota as the dependent variable. The beta diversity of the gut microbiota was analyzed by PCoA and PERMANOVA. Differential abundance was performed by ANCOM-BC and phylogenetic heat tree, corrected by FDR. Analyzes were performed using Stata 16.0 and R software.

Results: Consumption of sausages, snacks and instant noodles (≥ 1 time/day) or any type of UPF (≥ 2 times/day) was positively associated with alpha diversity parameters. Weaned children who consumed UPF were positively associated with the alpha diversity parameters, in relation to the group of breastfed children who did not consume UPF, indicating more distinct bacteria. UPF consumption was not associated with phylogeny, being distinct only between groups of contrasting breastfeeding practices (yes or not), according to analyzes of beta diversity and heat tree of phylogenetic differential abundance. Despite this, the practice of UPF consumption induced differences in diversity and abundance within the same phylogenetic branches.

Conclusion: Breastfeeding was able to mitigate the impact of UPF consumption, with differences being observed in the diversity and abundance parameters of the same phylogenetic branches, protecting the gut microbiota from premature maturity in the first year of life.

Keywords: gut microbiota; diet; child; cohort; public health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Taxonomia dos seres vivos.

Figura 2. Localização espacial do município de Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil.

Figura 3. Fluxograma das etapas de coleta, processamento e tratamento de dados de microbiota intestinal.

Figura 4. Modelo conceitual hierárquico para seleção de variáveis independentes associadas a composição da microbiota intestinal nos primeiros anos de vida.

Figura 5. Fluxograma da população de estudo para análises de microbiota intestinal no seguimento do primeiro ano de vida no Estudo MINA-Brasil.

Figura 6. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Bray-Curtis segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 7. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Jaccard segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 8. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Unifrac não ponderado segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 9. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Unifrac ponderado segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 10. Abundância relativa ao nível taxonômico de Filo segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 11. Abundância relativa ao nível taxonômico de Família segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 12. Abundância relativa ao nível taxonômico de Gênero segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Figura 13. Árvore de calor de abundância diferencial filogenética segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tabela-resumo dos estudos identificados sobre consumo de AUP e microbiota intestinal nos primeiros anos de vida.

Tabela 2. Coeficiente de regressão mediana com ajuste múltiplo (IC 95%) de fatores dietéticos segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota intestinal ao primeiro ano de vida.

Tabela 3. Análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) por pares de prática alimentar segundo parâmetros de beta diversidade da microbiota intestinal ao primeiro ano de vida.

Tabela 4. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de filo segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

Tabela 5. Comparação da abundância ao nível taxonômico de filo entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

Tabela 6. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de gênero segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

Tabela 7. Comparação da abundância ao nível taxonômico de gênero entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

Tabela 8. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de família segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

Tabela 9. Comparação da abundância ao nível taxonômico de família entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------|--|
| AME | Aleitamento materno exclusivo |
| ANOVA | Análise de variância |
| AUP | Alimento(s) ultra processado(s) |
| CCI | Coefficiente de correlação interclasse |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| cm | Centímetro(s) |
| DALY's | Anos de vida perdidos ajustados por incapacidade |
| DGGE | Eletroforese em gel de gradiente de desnaturação |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| ELISA | Ensaio de imun absorção enzimática |
| ENANI | Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil |
| F | Ferritina |
| FSP | Faculdade de Saúde Pública |
| g | Grama(s) |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta performance |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IC | Intervalo de confiança |
| IDH | Índice de Desenvolvimento Humano |
| IgA | Imunoglobulina A |
| IMC | Índice de massa corporal |
| Intergrowth-21st | <i>International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century</i> |
| IOM | <i>Institute of Medicine</i> |
| IPA | Índice parasitário anual |
| MINA-Brasil | Materno-Infantil no Acre: coorte de nascimentos da Amazônia Ocidental Brasileira |
| mL | Mililitro |
| k | Valor do índice de concordância Kappa |
| Kg | Quilograma(s) |
| LPS | Lipopolissacarídeo |
| mm | Milímetro(s) |

| | |
|------------------|---|
| MUFA | Ácidos graxos monoinsaturados |
| n | Número de participantes do estudo |
| ng | Nanograma(s) |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| OTU | Unidade taxonômica operacional |
| Pb | Par de base |
| PCoa | Análise de coordenadas principais |
| PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| PERMANOVA | Análise de variância multivariada permutacional |
| POF | Pesquisa de Orçamentos Familiares |
| PUFA | Ácidos graxos poliinsaturados |
| QIIME | <i>Quantitative Insights Into Microbial Ecology</i> |
| SFA | Ácidos graxos saturados |
| rRNA | Ácido ribonucléico ribossômico |
| <i>spp</i> | Espécies |
| START | <i>Canadian South Asian Birth Cohort</i> |
| sTRF | Receptor solúvel de transferrina |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| TR | Razão de tempo |
| UBS | Unidade Básica de Saúde |
| UFAC | Universidade Federal do Acre |
| UNICEF | <i>United Nations International Children's Emergency Fund</i> |
| USP | Universidade de São Paulo |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 1.1 Microbiota intestinal, o que é?..... | 17 |
| 1.2 Influência dos fatores socioeconômicos e ambientais..... | 20 |
| 1.3 Influência dos fatores maternos, gestacionais e obstétricos..... | 22 |
| 1.4 Influência do histórico de morbidades e desnutrição na infância..... | 28 |
| 1.5 Influência das práticas alimentares infantis..... | 31 |
| 1.6 Estudos de consumo de AUP e microbiota intestinal nos primeiros anos de vida...33 | |
| 2 JUSTIFICATIVA..... | 42 |
| 3 OBJETIVOS..... | 45 |
| 3.1 Objetivo geral..... | 45 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 45 |
| 4 MÉTODOS..... | 46 |
| 4.1 Delineamento, localização e população de estudo..... | 46 |
| 4.2 Coleta de dados na linha de base..... | 47 |
| 4.3 Acompanhamento e coleta de dados ao primeiro ano de vida..... | 50 |
| 4.4 Coleta de dados de consumo alimentar..... | 53 |
| 4.5 Coleta de dados para análises de microbiota intestinal..... | 53 |
| 4.6 Análise de dados..... | 55 |
| 5 RESULTADOS..... | 59 |
| 5.1 Fluxograma do seguimento do primeiro ano de vida do Estudo MINA-Brasil..... | 59 |
| 5.2 Alfa diversidade..... | 61 |
| 5.3 Beta diversidade..... | 64 |
| 5.4 Taxonomia e abundância diferencial..... | 68 |
| 5.4.1 Filo..... | 72 |
| 5.4.2 Gênero..... | 75 |
| 5.4.3 Família..... | 78 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 81 |
| 6.1 Consumo de AUP..... | 81 |
| 6.2 Achados deste estudo frente à literatura científica..... | 83 |
| 6.3 Enfrentamento aos AUP..... | 86 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 7 | CONCLUSÃO..... | 89 |
| 8 | SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS..... | 90 |
| | REFERÊNCIAS..... | 91 |
| | ANEXOS..... | 110 |
| | APÊNDICES..... | 126 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Microbiota intestinal, o que é?

O *Human Genome Project* (ADAMS et al., 1991), primeira grande iniciativa de sequenciamento genético, foi responsável por chocar a comunidade científica ao mapear que o organismo humano possuía menos genes que um camundongo e aproximadamente a mesma quantidade que uma *Drosophila*, na ordem de 20.000 genes. Desde então, foram elaboradas hipóteses que buscassem explicar a relação contrastante entre a pouca carga genética humana e sua complexidade orgânica, sendo os microrganismos presentes no organismo humano uma dessas possíveis explicações. Em 2007, uma extensão do *Human Genome Project* foi implementada a fim de mapear a taxonomia, genética, função e relação desses microrganismos para a constituição do (ser) humano. Essa iniciativa foi responsável pelo fomento, direto ou indireto, da ascensão exponencial dos estudos de microbiota, principalmente a intestinal, que é o locus da maior abundância de microrganismos do corpo humano (TURNBAUGH et al., 2007). Nos estudos até então conduzidos, a carga genética dos microrganismos presentes na microbiota intestinal é impressionantemente estimada em até 100 vezes maior que a quantidade de genes próprios/humanos (LEY et al., 2006; QIN et al., 2010), podendo responder bem porquê e como somos tão complexos possuindo tão pouco material genético.

Composta majoritariamente por bactérias (ECKBURG et al., 2005), mas sendo ou podendo ser também por outros microrganismos (GACI et al., 2014; IANIRO et al., 2014; SCARPELLINI et al., 2015; WILLIAMSON et al., 2016; CHABÉ et al., 2017), a microbiota intestinal é um ecossistema complexo que possui relação simbiótica com o hospedeiro humano (BÄCKHED et al., 2005; GILL et al., 2006; GUARNER, 2020). Isso significa, em síntese, que a sobrevivência dos microrganismos depende do estilo de vida e saúde do indivíduo humano, enquanto o humano se beneficia da atividade da microbiota intestinal, principalmente, quanto ao seu papel metabólico e energético (DEN BESTEN et al., 2013; MORRISON & PRESTON, 2016), na regulação imunológica (MASLOWSKI & MACKAY, 2011; STATOVCI et al., 2017; DONG et al., 2020), no desenvolvimento físico, cognitivo e comportamental (WANG & WANG, 2016; TOGNINI, 2017; JENSEN et al., 2020) e de proteção para incidência de doenças (YILMAZ et al., 2014; DUMAS et al., 2018; LEO & CAMPOS, 2020). Ademais, assim como em outros parâmetros em saúde, os primeiros anos de vida são cruciais para a composição da microbiota intestinal, uma vez que sua capacidade de ser modulada é maior até o terceiro ano

de vida, quando então tende a se estabilizar ser muito semelhante a apresentada pelo indivíduo quando adulto (YATSUNENKO et al., 2012; MATAMOROS et al., 2013).

A definição de um padrão universal de composição para uma microbiota intestinal saudável é extremamente complexa e ainda não consensual, em decorrência principalmente das variações etárias, ambientais, socioeconômicas, de condição de saúde e de práticas alimentares (ROBERTSON et al., 2019). Todavia, para os primeiros anos de vida entende-se que uma composição da microbiota intestinal adequada seja derivada da microbiota presente no leite materno e de seus componentes simbióticos, uma vez que existe robustez de evidências a nível global quanto ao seu poder protetor à incidência de doenças e potencializador do capital humano, sendo ainda uma “exposição” universal (salvo agravos específicos à saúde materna e/ou infantil) que pode ser iniciada a poucos minutos após o parto e continuada nos primeiros anos de vida. Ainda, espera-se que nesse período a criança não possua a mesma maturidade de composição da microbiota intestinal que a de um adulto, sendo que, diferentemente de outros atributos do desenvolvimento, uma maturidade adquirida precocemente pode não ser algo benéfico e sim acarretar em danos futuros à saúde.

A análise da microbiota intestinal, em geral, é conduzida por instrumentos da área da Biologia, mais especificamente da Ecologia, quanto à determinação de sua composição. Predominantemente, são utilizados modelos de amplificação e sequenciamento de material genético extraído de sítios de maior estabilidade e universalidade entre os microrganismos, de modo a abranger uma vasta gama de espécimes de modo padronizado, que será categorizado taxonomicamente (Figura 1) a partir de testes de compatibilidade/similaridade genética em bancos de dados de microrganismos outrora sequenciados (NASEM, 2017). A partir disso, análises intra- e entre-amostras podem ser desempenhadas no tocante, principalmente, a abundância e diversidade.

A abundância visa quantificar a população de cada microrganismo presente na amostra, *proxy* da comunidade geral da microbiota intestinal, podendo ser empregado desde o nível taxonômico de filo à espécie. Quanto mais similares são as abundâncias entre microrganismos de um mesmo nível taxonômico, mais uniforme é a comunidade, sendo a uniformidade outro aspecto exploratório dentro de um ecossistema ecológico. O modo de determinação da abundância, por mais simplório e inicial que seja, ainda não é consensual e pode denotar diferentes resultados de uma mesma amostra, sendo um possível indutor de viés e indicando a importância do tratamento desses dados (NEARING et al., 2022).

Já em relação à diversidade, sua análise ocorre por diferentes prismas, sendo majoritariamente exploradas em estudos de microbiota intestinal a alfa e beta diversidade, desenvolvidas no século passado (WHITTAKER, 1972) e que ainda são medidas bastante robustas mesmo 50 anos depois. De modo sumário, a diversidade alfa se refere à quantidade de diferentes espécies em um mesmo ecossistema (diversidade intra-amostra), enquanto a beta diversidade descreve o quão diferente são as espécies entre dois ecossistemas (diversidade entre amostras). Para a análise de alfa diversidade, diferentes parâmetros matemáticos podem ser empregados para enfatizar aspectos específicos, como a quantificação independente de abundância (riqueza), espécies com maior abundância relativa ou espécies com menor abundância relativa/raras, entretanto cada um se estabelece a partir de escalas pouco comparáveis entre si e ainda menos intuitivas em relação aos seus reais valores absolutos, como Jost (2007) descreve:

“[Em uma situação hipotética de praga] A riqueza de espécies em um ecossistema cai de 30 milhões para 15 milhões; de acordo com este índice, o continente pós-praga tem metade da diversidade que tinha antes. Isso está de acordo com nossa intuição biológica sobre a magnitude da queda. No entanto, a entropia de Shannon só cai de 17,2 para 16,5; segundo esse índice, a praga provocou uma queda de apenas 4% na “diversidade” do continente, o que não converge bem com nossa intuição de que a perda de metade das espécies e que metade dos indivíduos é uma grande queda na diversidade. Assim como o índice Gini-Simpson que cai de 0,99999997 para 0,99999993”.

Para a beta diversidade utiliza-se medidas de dissimilaridade ou métricas de distância filogenética para sua determinação, podendo também enfatizar espécies abundantes ou raras a depender da abordagem empregada. Idealmente, os cálculos de alfa e beta diversidade devem ser independentes, todavia alguns dos métodos de beta diversidade possuem em sua estruturação a dependência oculta da diversidade alfa, induzindo um viés (JOST, 2007), que pode ser gerado em cadeia desde a coleta das amostras, sequenciamento e clusterização, determinação do método de abundância, escala de alfa diversidade empregada e valor de beta diversidade obtido. Os vieses são inerentes aos métodos, contudo a análise crítica quanto às suas fontes e devido emprego na interpretação dos resultados é fundamental.

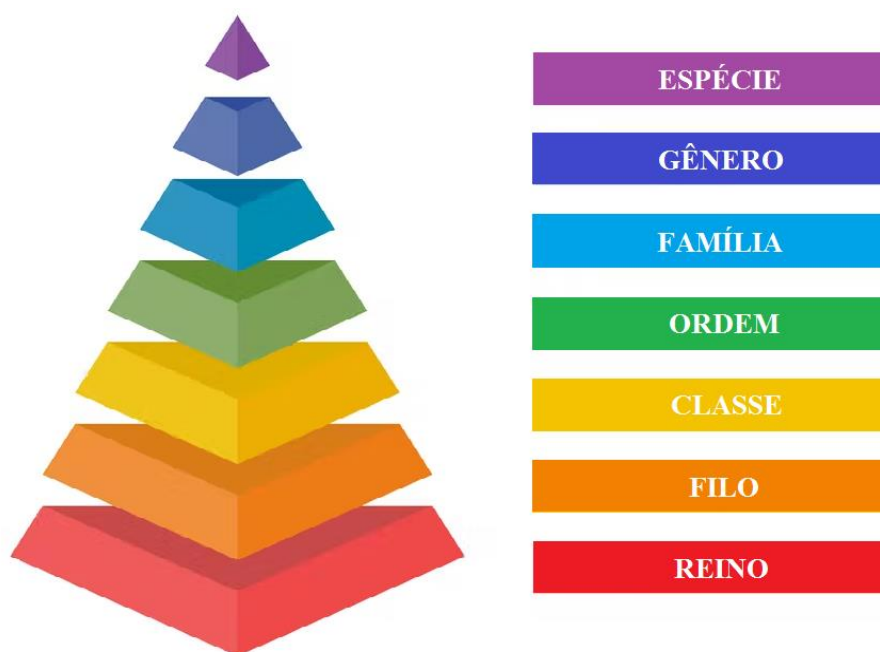


Figura 1. Taxonomia dos seres vivos.

1.2 Influência dos fatores socioeconômicos e ambientais

Características demográficas, econômicas, estruturais, socioculturais e de acesso a bens de consumo e serviços são determinantes ambientais fortemente associados aos desfechos em saúde (LYNCH et al., 2000; MITCHELL & POPHAM, 2008) e com a microbiota intestinal não é diferente. Embora seja plausível uma contribuição de fatores genéticos e hereditários para a composição da microbiota intestinal, a carga de contribuição desses fatores ainda é inconclusiva e pode ser atenuada em relação aos fatores ambientais. Um estudo transversal aninhado a uma coorte israelense avaliou o genótipo e microbiota intestinal de indivíduos saudáveis (n=1046) com várias origens ancestrais distintas, sendo *ashkenazi* (n=508), norte-africano (n=64), Oriente Médio (n=34), sefardita (n=19), iemenita (n=13) e “miscigenado” (n=408), que compartilhavam ambientes relativamente comuns entre eles. Foi identificado que a microbiota intestinal não estava significativamente associada à ancestralidade genética, existindo semelhanças mais significativas nas composições das microbiotas intestinais de indivíduos geneticamente não relacionados que compartilham uma mesma moradia em relação a indivíduos de mesma origem ou genética (ROTHSCHILD et al., 2018), convergindo com resultados de estudos anteriores (CLAESSON et al., 2012; SONG et al., 2013).

Ainda quanto à moradia, um estudo transversal analisou a microbiota intestinal de crianças saudáveis (n=360), entre 2 semanas a 5 meses de vida, em onze locais sendo oito países diferentes (Etiópia, Gâmbia, Gana, Quênia, Peru, Espanha, Suécia e Estados Unidos), quanto à quantidade e relação familiar de residentes em uma mesma casa. Os resultados indicaram que a composição familiar da moradia (número de irmãos e número de pessoas que viviam ali) não se associou com a alfa diversidade da microbiota intestinal, entretanto a presença de irmãos se associou a uma abundância relativa aumentada para *Lactobacillus* e diminuição de *Clostridium* LANE et al., 2019), convergente com achados anteriores (PENDERS et al., 2006; ADLERBERTH et al., 2007; PENDERS et al., 2013). Além disso, crianças que vivem em moradias que possuem animais de estimação podem ter a composição da microbiota intestinal distintas de crianças que não possuem contato com algum animal, conforme achados que indicaram aumento de até duas vezes na abundância relativa de *Oscillospira* e/ou *Ruminococcus* e diminuição de até 80% de *Streptococcaceae* (TUN et al., 2017) e aumento da abundância relativa de *Bifidobacteriaceae* e diminuição de *Peptostreptococcaceae* (AZAD et al., 2013a).

Outro importante aspecto é a localização geográfica do local de moradia. Assim, um estudo de coorte analisou indivíduos oriundos de povos Hmong, grupo étnico formado por diversas comunidades nativas do Sudeste Asiático, que emigraram e/ou se refugiaram para/nos Estados Unidos (EUA). O estudo incluiu um grupo de Hmong que continuou vivendo na Tailândia (n=179), um de imigrantes Hmong de primeira geração - residentes nos EUA nascidos no exterior - (n=281) com duração de residência nos EUA variando de dias a mais de 40 anos, permitindo testar alterações no microbioma intestinal associadas à residência de longo prazo nos EUA, além de segunda geração - nascidos nos EUA com pais imigrantes - (n=51). Identificou-se que alfa e a beta diversidade microbiana foram maiores nos indivíduos que vivam na Tailândia e diminuíram a cada geração de residência nos EUA, com perda gradual de espécies bacterianas nativas como *Prevotella* e aumento de até 10 vezes na abundância *Bacteroidetes* (VANGAY et al., 2018).

A simples mudança de um ponto A para um ponto B não produzirá nenhum efeito por si própria quanto a microbiota intestinal, já que sua modulação é influenciada, na verdade, pelas diferenças estruturantes das sociedades. Dentre elas, um dos principais determinantes é o fator econômico. Uma recente revisão identificou que o nível socioeconômico em diferentes populações foi associado a microbiota intestinal de adultos e crianças (AMATO et al., 2021), sendo que em crianças os índices de riqueza se mostraram inversamente proporcionais à diversidade (CHONG et al., 2015; AMARUDDIN et al., 2020), podendo explicar junto a

escolaridade materna 5% (LEVIN et al., 2016) e ao comportamento do cuidador 22,3% da variação na composição da microbiota intestinal (FLANNERY et al., 2020). Ainda, em estudo transversal chinês com cerca de 7000 indivíduos, majoritariamente adultos, identificou variação das abundâncias relativas da microbiota intestinal eram 38,3% explicadas por renda e gastos pessoais (HE et al., 2018), reforçando a grande contribuição da renda na modulação.

Um fator negligenciado em estudos de microbiota intestinal, mas que é fundamental para a saúde de qualquer indivíduo em qualquer lugar do mundo é o consumo de água. Todavia, a depender de onde se vive, a água de consumo pode ter fontes advir de fontes distintas, muitas delas sem tratamento microbiológico. Em estudo com população nepalesa do Himalaia (n=54), a fonte da água de consumo foi significativamente associada à composição da microbiota intestinal, sendo que indivíduos que bebiam água do rio tinham maior abundância de *Treponema*, enquanto aqueles que bebiam água subterrânea tinham níveis elevados de *Fusobacterium*. Ainda no mesmo estudo, foram analisados dados de caçadores-coletores *Hadza* (n=60), que consumiam águas oriundas de córregos (n=38) e de nascentes (n=22), onde a fonte de consumo de água associou-se à beta diversidade ponderada e não ponderada da microbiota intestinal (JHA et al., 2018).

Infelizmente, poucos estudos de fatores ambientais em países subdesenvolvidos foram até então publicados. Até o começo de 2022, 2592 estudos de microbiota foram publicados, incluindo 220.017 amostras do microbioma intestinal, todavia, segundo três maiores repositórios de dados genômicos do mundo, mais de 71% das amostras tem origem na Europa, EUA e Canadá, sendo 46,8% apenas dos EUA, apesar do país representar apenas 4,3% da população global. Em contraste, países como Índia, Paquistão e Bangladesh representam mais de um quarto da população mundial, mas representam apenas 1,8% das amostras de microbioma humano (ABDILL et al., 2022).

1.3 Influência dos fatores maternos, gestacionais e obstétricos

Durante a gestação, a microbiota materna é fisiológica e imunologicamente modulada de acordo com o período: no primeiro trimestre, com o propósito de atenuar as chances de rejeição ao feto, que é considerado como não próprio pelo sistema imunológico, ocorre aumento das bactérias produtoras de butirato estimulando a expressão de linfócitos T reguladores que geram imunossupressão a partir do aumento de interleucina-10; no último trimestre, a fim de

umentar o aporte energético-nutricional para crescimento e desenvolvimento fetal, ocorre um aumento de *Proteobacterias* que descarboxilam aminoácidos e induzem a resistência periférica à insulina para aumento da glicemia (BLASER & DOMINGUEZ-BELLO, 2016). Análises do mecônio de neonatos indicaram a possibilidade da ocorrência de fluxo de microrganismos da mãe para o bebê via cordão umbilical e/ou deglutição do líquido amniótico - que hipóteses atuais também o indicam como não estéril (DIGIULIO et al., 2008; COLLADO et al., 2016; STINSON et al., 2019), sugerindo uma colonização pré natal associada à microbiota materna (JIMÉNEZ et al., 2005; MSHVILDADZE et al., 2010; MOLES et al., 2013; COSCIA et al., 2021) que é diretamente associada às condições de saúde e o estilo de vida (RODRIGUEZ et al., 2015).

Todavia, ainda não há consenso científico entre colonização da microbiota infantil intra útero, sendo discutido, principalmente, que as bactérias identificadas em amostras pós parto poderiam ser oriundas de contaminação procedimental, potencializado pelo baixo rigor no controle das etapas e pela coleta majoritariamente ocorrer em ambientes clínicos e/ou com alta chance de contaminação; não haver estudo de evidência de viabilidade bacteriana nas amostras; e evidência robusta da geração bem-sucedida de animais livres de germes por meio da transferência asséptica de todo o útero advindo de mães não livre de germes (PEREZ-MUÑOS et al., 2017).

De todo modo, a dieta materna na gestação aparece como importante fator modulador da composição da microbiota infantil ao nascimento. Em estudo transversal aninhado (n=73) à coorte prospectiva MAMI, de saúde materno-infantil espanhola, identificou-se que espécies de *Firmicutes* foram positivamente associadas à ingestão materna de ácidos graxos, especialmente saturados (SFA) e monoinsaturados (MUFA), e negativamente associadas ao consumo materno de fibras, proteínas de origem vegetal e vitaminas (SELMA-ROYO et al., 2021). Ainda, um estudo com prospectivo com sub-amostra (n=81) derivada de uma coorte estadunidense identificou, no mecônio pós parto e nas fezes 6 semanas após o parto, notável depleção na abundância relativa de *Bacteroides* na microbiota intestinal dos recém-nascidos exposto a uma dieta materna rica em gordura durante a gestação (CHU et al., 2016) e um estudo de com sub-amostra (n=100) derivada da coorte canadense CHILD identificou essa mesma depleção quando houve consumo materno de adoçantes artificiais (LAFOREST-LAPOINT et al., 2021). A razão *Firmicutes/Bacteroides* elevada outrora foi associada à microbiota não saudável, todavia atualmente há relativização desse indicador pela alta variabilidade entre e intra populações e grupos populacionais (MAGNE et al., 2020). Também, um estudo vinculado à

coorte de nascimentos prospectiva New Hampshire (n=145) indicou alterações na microbiota infantil a depender da dieta materna, com comportamentos distintos a depender do tipo de parto (LUNDGREN et al., 2018).

Ainda, por mais que não seja recomendado nesse período, durante a gestação há possibilidade de ocorrer consumo materno de bebidas alcoólicas. Em estudo transversal chinês com amostra de conveniência (n=29), a microbiota intestinal de mães de mães que consumiam álcool (n=10) e que não consumiam álcool (n=19) e seus bebês foi avaliada. Acerca dos parâmetros de diversidade, foi encontrada associação significativa entre consumo de álcool e beta diversidade, tanto na microbiota intestinal das mães quanto a dos bebês, entretanto não houve alteração para a alfa diversidade. Já para a taxonomia, o consumo de bebidas alcoólicas foi positivamente correlacionado a *Phascolarctobacterium* e *Blautia*, mas negativamente correlacionado a *Faecalibacterium* (WANG et al., 2021).

Quanto a condição referente ao índice de massa corporal (IMC) materno pré-gestacional, um estudo espanhol identificou que mulheres com sobrepeso (n=16) apresentaram ao final do 4º mês de gestação maiores abundâncias relativas de *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* e *Escherichia coli* comparadas às com classificação de eutrofia (n=34), que por sua vez apresentaram maiores abundâncias relativas de *Bacteroides* e *Bifidobacterium* (SANTACRUZ et al., 2010). Outro estudo, com sub-amostra (n=52) de uma coorte prospectiva finlandesa, identificou composições de microbiota intestinal significativamente diferentes de mulheres com classificação de obesidade pré-gestacional (n=18) em comparação com mulheres eutróficas durante o 1º e 3º trimestres de gravidez, com aumento da abundância relativa de *Bacteroides*, *Staphylococcus* e *Clostridium* (COLLADO et al., 2008).

Em relação ao impacto do IMC materno pré-gestacional à microbiota infantil, Ademais, um estudo transversal brasileiro, com amostra de conveniência (n=74) em hospital privado com pacientes de alto status socioeconômico, coletou amostras fecais da primeira evacuação após o mecônio e identificou que nascidos por via vaginal (n=18) recém-nascidos de mães classificadas com sobrepeso ou obesidade (n=5) tinham uma estrutura de comunidade de microbiota intestinal distinta dos com mães eutróficas (n=13) na beta diversidade por UniFrac ponderado e não ponderado, com incremento de *Bacteroides* e empobrecido em *Enterococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e *Hydrogenophilus*, sendo que para nascidos via cesárea (n=56) não houve diferença entre mães classificadas com sobrepeso ou obesidade (n=26) e eutróficas (n=30) (MUELLER et al., 2016). Aos 6 meses de vida, um estudo com sub-amostra (n=42) de uma coorte prospectiva finlandesa, a mesma citada no parágrafo anterior, identificou que a

microbiota de crianças com mães com IMC acima da classificação de eutrofia possuíam maiores abundâncias de *Bacteroides*, *Clostridium* e *Staphylococcus* e menores concentrações do grupo *Bifidobacterium* em relação a nascidos de mães eutróficas (COLLADO et al., 2010). Entre 18 e 27 meses, um estudo transversal estadunidense com amostra de conveniência (n=77) identificou que nascidos de mães classificadas com obesidade e alto status socioeconômico possuíam maior alfa diversidade, pelo índice de Shannon, comparados aos nascidos de mães com mesmo status e IMC eutrófico (GALLEY et al., 2014).

O ganho de peso gestacional também é investigado quanto a sua relação com a microbiota intestinal infantil. No mesmo estudo finlandês supracitado dois parágrafos acima, mulheres que ganharam peso gestacional excessivo, independentemente do IMC pré-gestacional, apresentaram diferenças significativas na composição da microbiota em comparação com as mulheres que tiveram ganho de peso adequado quanto às espécies de *Bacteroides* foram elevadas em todas as mulheres com ganho excessivo (COLLADO et al., 2008). Em estudo com uma sub-amostra (n=169) da coorte de nascimento norueguesa NoMIC, a microbiota intestinal de crianças aos 2 anos de vida não foi associada significativamente ao ganho de peso gestacional excessivo das mães, bem como do IMC pré-gestacional (STANISLAWSKI et al., 2017).

Em recente revisão sistemática com meta-análise avaliou a relação entre IMC materno ou ganho de peso gestacional excessivo quanto à microbiota infantil concluiu que ambos estão modestamente associados à diversidade, com índice de Shannon ligeiramente reduzido em comparação a mães eutróficas ou ganho de peso gestacional adequado, respectivamente. Contudo, há uma alta variabilidade dos períodos de avaliação, contextos ambientais, casuística e metodologia de análise, que impacta na heterogeneidade dos resultados, sendo necessárias mais investigações longitudinais prolongadas para avaliar com maior confiabilidade. A obesidade materna pode não impactar a microbiota intestinal infantil de forma significativa quando as variáveis de tipo de parto, aleitamento materno e a alimentação complementar são consideradas. (GRECH et al., 2021).

Um fator crucial para a composição da microbiota neonatal é o tipo de parto, já que se observa diferenças na microbiota entre bebês nascidos via parto vaginal quando comparados aos nascidos de parto cirúrgico. No primeiro, a composição da microbiota intestinal do recém-nascido é marcada pela presença de bactérias *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia*, predominantes na vagina materna; enquanto para o parto cesariano, a similaridade da microbiota intestinal neonatal é com a pele materna, destacando-se a presença de

Staphylococcus, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010). Em decorrência da associação entre a colonização neonatal caracterizada pelo parto cesariano e o aumento do risco para desenvolvimento de doença celíaca (DECKER et al., 2011), rinoconjuntivite alérgica (RENZ-POLSTER et al., 2005), asma e alergias alimentares (BAGER et al., 2008), alguns hospitais ou maternidades ao redor do mundo possuem profissionais que adotam a prática do “Vaginal Seeding” que consiste na inoculação de uma gaze ou cotonete com fluidos vaginais maternos na boca, nariz ou pele do recém-nascido como alternativa para colonização intestinal neonatal semelhante à propiciada pelo parto vaginal. Embora haja estudos que demonstrem a eficácia da prática (BUTLER et al., 2020; KORPELA et al., 2020; SONG et al., 2021), um maior escopo de evidências é necessário para uma avaliação apropriada, sendo até o momento não recomendada por associações de ginecologia e obstetrícia dos EUA, Austrália e Nova Zelândia em contextos clínicos, sem fins científicos (ACOG, 2017; SAFER CARE VITORIA & RANZOG, 2021).

Ainda quanto ao parto, a administração de antibiótico é bastante utilizada como profilaxia contra infecções perinatais. Uma vez que a maioria dos antibióticos atuam na inibição do crescimento e/ou morte bacteriana em amplo espectro, isto é, sem especialização de qual tipo de bactéria específica será o alvo de ação, e a microbiota intestinal é composta majoritariamente por este grupo, é de se prever que seu uso a impacte de alguma forma. Assim, foi demonstrada alteração da composição da microbiota intestinal, obtida a partir do mecônio do grupo exposto aos antibióticos *versus* grupo controle, de crianças prematuras e a termo com a diminuição da abundância bacteriana de espécies potencialmente benéfica, como os *Lactobacillus spp* (ZHOU et al., 2020). Os impactos do uso de antibióticos no intraparto não são só ilustrados nas primeiras horas ou dias de vida. Aos 3 meses, um significativo decréscimo na abundância de *Bacteroides* e *Parabacteroides* e aumento de *Enterococcus* e *Clostridium* na microbiota intestinal foi observado em crianças nascidas de mães que receberam antibiótico, sendo que aos 12 meses algumas dessas crianças ainda possuíam sua colonização discrepante do grupo controle, pelo decréscimo de *Bacteroidaceae* e aumento de *Clostridiales* (AZAD et al., 2016).

Sobre a idade gestacional, uma revisão sistemática avaliou 60 artigos quanto aos fatores que influenciam na relação entre prematuridade e microbiota intestinal na infância (AGUILAR-LOPEZ et al., 2021). Os partos de crianças pré-termo, que ocorridos por meio de cesárea correspondem a cerca de 31% de todos os nascimentos anuais ao redor do mundo (THAHN et al., 2019), caracterizam uma microbiota intestinal com características muito particulares. A

nível de diversidade, identificou-se que o intercorrências gestacionais (bolsa rota e corioamnionite), falha de crescimento, uso de antibióticos durante cuidados intensivos e alimentação por fórmula infantil diminuíram os parâmetros de diversidade alfa, enquanto o aleitamento materno, alto consumo de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), aumento da idade gestacional e da idade pós-natal aumentaram a alfa diversidade.

Quanto à abundância, *Bifidobacterium* teve acréscimo pela idade pós menstrual, consumo de lipídeos, pro e/ou prebióticos e leite materno e uso de bloqueadores de H2, enquanto teve decréscimo por consumo proteico e uso de antibióticos. *Staphylococcus* aumentou com bolsa rota, baixo peso ao nascer e aleitamento materno, diminuindo com parto cesárea e idade pós menstrual e não se alterando com hospitalização em cuidados intensivos ao nascimento. *Enterococcus* foi acrescido pela idade pós menstrual e uso do antibiótico vancomicina, sendo diminuído pelo uso dos antibióticos tazobactam e piperacilina e não se alterando com cuidados hospitalares intensivos ao nascimento. *Gammaproteobacteria* aumentou com o aleitamento materno, uso de bloqueadores de H2 e uso de antibióticos, diminuindo com parto cesáreo e corioamnionitis. *Bacteroides* foi acrescido para uso dos antibióticos penicilina, moxalactam, piperacilina e tazobactam, e diminuído para demais antibióticos e parto cesáreo. *Streptococcus* aumentou com idade pós menstrual, bolsa rota e uso de fórmula, diminuindo com consumo de PUFA. *Lactobacillus* tiveram aumento para baixo peso ao nascer, aleitamento materno, uso de fórmula e pro e/ou prebióticos, idade gestacional corrigida e uso dos antibióticos penicilina e moxalactam, com diminuição para os demais antibióticos. *Enterobacteriaceae* aumentou com idade pós menstrual e uso de bloqueadores de H2, diminuindo com parto cesáreo, uso de antibióticos e prebióticos. *Escherichia* aumentou com o uso dos antibióticos cefotaxima, penicilina e moxalactam, sendo diminuído por consumo de PUFA e não alterado com cuidados hospitalares intensivos ao nascimento. *Clostridia* foi aumentada por baixo peso ao nascer, idade pós menstrual e aleitamento materno, sendo diminuída por uso de antibióticos (AGUILAR-LOPEZ et al., 2021). Ainda, um estudo longitudinal pertencente à coorte INFANTMET acompanhou crianças ao primeiro (n=70), segundo (n=57) e quarto (n=32) anos de vida, identificando que crianças com parto a termo possuem maiores abundâncias relativas de *Bacteroides* ao primeiro ano, *Parabacteroides* ao segundo ano e *Christensenellaceae* ao quarto ano, enquanto prematuros são *Lactobacillus* ao primeiro ano, *Streptococcus* ao segundo ano e *Carnobacterium* ao quarto ano de vida (FOUHY et al., 2019).

Já quanto ao uso de antibióticos como forma de tratamento nos primeiros anos de vida, um estudo de revisão sistemática e meta-análise que incluiu 48 estudos, sendo 3 ensaios clínicos randomizados e 45 observacionais, se mostrou consideravelmente confiante em dizer que o uso de antibióticos aumenta o resistoma bacteriano e pode induzir seleção de bactérias potencialmente patogênicas na microbiota infantil (FJALSTAD et al., 2018).

1.4 Influência do histórico de morbidades e desnutrição na infância

As infecções por helmintos são uma das doenças mais prevalentes do mundo, atingindo cerca de 1/6 da população mundial, principalmente em países subdesenvolvidos (JOURDAN et al., 2018), e considerando as características exploratórias das crianças frente a tudo que cerca o ambiente em que vivem, a ocorrência de verminoses tem aumento de risco. Uma revisão sistemática com metanálise identificou 21 estudos com humanos quanto a infecção por helmintos e suas repercussões na microbiota intestinal (KUPRITZ et al., 2021). Desses, 17 estudos avaliaram parâmetros de alfa diversidade, onde 6 (35%) não encontraram diferenças significativas entre infectados ou não infectados por helmintos, 7 (41%) identificaram maior alfa diversidade em indivíduos infectados por helmintos e 4 (24%) identificaram maior alfa diversidade em indivíduos não infectados por helmintos. Quanto a beta diversidade, 14 estudos fizeram análises de seus parâmetros e houve diferença entre os grupos de infectados e não infectados por helmintos em 8 (57%) deles. Essa metanálise contou com 7 estudos com metadados disponíveis em nível individual, sendo que a alfa diversidade diferiu para maiores índices de Shannon, Chao1 e inverso de Simpson entre infectados por múltiplas espécies de helmintos em relação a não infectados em análise não ajustada. Com ajuste para a idade, também houve diferenças estatisticamente significantes na alfa diversidade entre infectados por helmintos (sendo apenas uma ou multi espécies de helmintos) e não infectados. Para a beta diversidade, as análises também indicaram diferenças significantes entre infectados por helmintos (sendo apenas uma ou multi espécies de helmintos) e não infectados, sendo os helmintos responsáveis por 33% da variação entre os grupos. Os resultados indicam que a infecção por helmintos é um fator relevante na composição da microbiota intestinal, todavia apenas 2,7% das amostras analisadas provinham de lactentes e 36% de indivíduos abaixo dos 18 anos, não sendo possível precisar qual impacto dos helmintos na microbiota intestinal na infância.

A malária é uma doença infecciosa parasitária que possui áreas endêmicas em 91 países, incluindo o Brasil, sendo notificados 241 milhões de casos e 627 mil mortes em 2020 (WHO, 2021), sendo gestantes e crianças menores de 5 anos os grupos mais vulneráveis a doença (WHO, 2017). Quanto à microbiota intestinal, seus efeitos permanecem pouco compreendidos e contraditórios, segundo recente revisão narrativa acerca da temática (MUTONI et al., 2022), o que se deve também pelo baixíssimo número de estudos disponíveis em humanos, principalmente em crianças. Dos poucos publicados, um estudo longitudinal do nascimento aos 10 meses de idade, analisou a microbiota de crianças antes e após episódios de malária, sem uso de antibióticos entre as coletas, não identificou alterações significantes na diversidade alfa e beta, além de análises taxonômicas (MANDAL et al., 2019). Ainda, um estudo de mesmo autor com crianças de Uganda coletou amostras fecais de crianças com anemia grave por malária (n=40), crianças com malária assintomática (n=7) e crianças que não estavam infectadas por malária (n=28), identificando que não houve diferença estatisticamente significativa na alfa diversidade entre os grupos, mas com discrepâncias na beta diversidade entre grupos com malária (MANDAL et al., 2021). Todavia, em estudos com modelos animais, os resultados de infecção por malária apresentam-se mais impactantes quanto aos parâmetros de microbiota intestinal, com aumento da abundância de *Proteobacteria*, diminuição de *Bacteroides* (GUAN et al., 2021), *Firmicutes* (TANIGUCHI et al., 2015) e da resistência à colonização por *Salmonella* não tifóide (MOONEY et al., 2015), além de doenças intestinais e neurológicas que podem ser mediadas pelo eixo intestino-cérebro (TANIGUCHI et al., 2015)

Além disso, é postulado o sentido contrário dessa relação entre malária e microbiota intestinal, onde a composição desse ecossistema modula o risco de infecção e a gravidade da doença. Em estudo de coorte de crianças e adultos malianos (n=195) avaliou se composições específicas da microbiota intestinal humana poderiam modular o risco de infecção por malária, pouco antes de uma intensa temporada de transmissão de *Plasmodium falciparum*, identificando que indivíduos com maiores abundâncias relativas de *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Ruminococcaceae* possuíram menor risco de infecção por malária (YOOSEPH et al., 2015). Adicionalmente, o estudo ocorrido em Uganda, citado no parágrafo anterior, identificou que a microbiota intestinal tem capacidade de modular a gravidade da infecção de malária através da regulação do centro germinativo do baço, e que também o uso do antibiótico vancomicina alterou a composição da microbiota intestinal de modo a aumentar a resistência à infecção por *Plasmodium* (MANDAL et al., 2021). Em ratos, abundâncias relativas maiores de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* se mostraram protetoras quanto à gravidade da infecção por malária

(VILLARINO et al., 2016). Embora esses achados possam indicar essa modulação, reforçada por Yilmaz e colaboradores (YILMAZ et al., 2014) com as hipóteses imunológicas da relação de proteção da microbiota intestinal em relação à malária pela expressão de anticorpos anti-alfa-gal, associação não determina causalidade e se faz imprescindível um maior escopo de evidências sobre essa temática.

Outra importante morbidade no início da vida é a desnutrição, que em 2017 foi responsável por atingir mais de 150 milhões de crianças abaixo de 5 anos ao redor do mundo, algo em torno de 22% das crianças nessa faixa etária, principalmente em países ou regiões de baixa renda. Pela desnutrição, cerca de 3 milhões de crianças morrem por ano (UNICEF, 2018). As causas de desnutrição podem ser abrigadas em três grupos, sendo imediatas (ingestão alimentar inadequada e doenças), subjacentes (saneamento, acesso à serviços de saúde e práticas de cuidados infantis familiares precários) e básicas (cultura, política, infraestrutura economia local) (UNICEF, 1991). Para identificação da desnutrição, existem métodos antropométricos, sendo o peso para idade (baixo peso), altura para idade (*stunting*) e peso para altura (*wasting*) indicadores amplamente usados com base nas curvas de crescimento (WHO, 2006).

A ocorrência de diarreia, principalmente da forma crônica, é uma das principais causas imediatas de desnutrição. Essa, também diretamente ligada à distúrbios na composição da microbiota intestinal, sendo sabido que *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile* e *Aeromonas* são considerados os principais patógenos da incidência de diarreia infecciosa (HODGES & GILL, 2010 ; KAAKOUSH et al., 2015; LEVINE et al., 2020), que também levam ao aumento da fragilidade da barreira intestinal (MONDAL et al., 2012).

Quanto a microbiota intestinal na desnutrição, os resultados de estudos com crianças oriundas de diferentes populações ao redor do planeta convergem quanto a diminuição dos parâmetros de diversidade da microbiota intestinal, com aumento da abundância relativa de *Proteobacteria*, *Bacteroides* e *Firmicutes* (MONIRA et al., 2011; GHOSH et al., 2014; REYES et al., 2015; KRISTENSEN et al., 2016; TIDJANI et al., 2017). Além disso, foi identificado que em crianças com desnutrição aguda moderada e grave possuíam imaturidade persistente da microbiota intestinal, com composição mais jovem que comparadas a crianças de mesma faixa etária sem quadro de desnutrição (SUBRAMANIAN et al., 2014; BLANTON et al., 2016).

Ainda, um estudo caso-controle indiano derivado de uma coorte de nascimento investigou, a cada três meses até completar 2 anos de vida, a composição da microbiota intestinal de

crianças com baixo peso ao nascer e *stunting* persistente (n=10), um dos parâmetros de desnutrição, e crianças com peso adequado ao nascer e crescimento normal (n=10). Nele, não foi identificada diferença significativa nos parâmetros de diversidade entre casos e controles, todavia, aos 12 meses houve aumento significativo da abundância relativa de *Bacteroidetes* nos casos (crianças com *stunting*) em comparação aos controles, assim como diminuição de *Proteobacteria* e *Actinobacteria* nos casos em relação aos controles ao longo do tempo. A microbiota intestinal dos controles se mostrou mais rica em *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, enquanto a dos casos *Campylobacterales* e *Desulfovibrio* (DINH et al., 2016). Também, um recente estudo transversal indonésio com amostra de conveniência (n=131) analisou a microbiota intestinal de crianças de 3 a 5 anos com altura adequada (n=53) e *stunting* (n=78) e identificou que crianças com *stunting* possuíam menores abundâncias relativa de *Bacteroidetes* e *Prevotella* e maior de *Firmicutes* em relação às com altura adequada (SURONO et al., 2021). As diferenças entre os estudos, principalmente quanto a “contradição” quanto ao *Bacteroidetes*, podem ser devidas às diferenças populacionais e de faixa etária estudada, entretanto sugerem que não há ainda nenhuma convergência quanto à composição da microbiota intestinal no *stunting*.

1.5 Influência das práticas alimentares infantis

Um dos fatores primordiais do benefício mútuo da relação simbiótica da microbiota intestinal entre hospedeiro e hóspede, é a oferta de substratos advindos da dieta humana (hospedeiro) que confirmam condições de nutrição dos hospedeiros (principalmente bactérias), possibilitando a sobrevivência, crescimento e multiplicação de sua espécie para que possa desempenhar suas atividades vitais no ecossistema intestinal, atividades essas que podem ser funcionais ao organismo humano. Todavia, diferentemente dos seres humanos, as bactérias não possuem gama diversa de “aceitação” alimentar, se nutrindo apenas de substratos específicos. Dessa forma, os alimentos escolhidos para consumo na dieta humana possuem não só a função biológica de auto nutrição, bem como também da modulação e seleção de quais espécies bacterianas estarão aptas a serem inquilinas e vigorarão na grande morada que é o intestino humano (FALLANI et al., 2011; DAVID et al., 2014; BÄCKED et al., 2015; LAURSEN et al., 2017; DIFFERDING et al., 2020).

Rico em oligossacarídeos, conhecidos como HMO, e detentor de um microbioma particular, o leite materno possui ação probiótica (KUNZ et al., 2000; COPPA et al., 2006; ZHANG et al., 2021) e prebiótica (McGUIRE & McGUIRE, 2005; MOOSSAVI et al., 2018; ZHANG et al., 2021), sendo considerado um alimento simbiótico que atua como fator de proteção à incidência de doenças (LADOMENOU et al., 2010; WALKER, 2010; LODGE et al., 2015). É recomendado que bebês até os seis meses de idade tenha como única fonte de água e nutrientes o leite materno obtido direto da mama, ordenhado ou oriundo de uma ama de leite, configurando um aleitamento materno exclusivo, sendo permitido ainda o consumo de xaropes ou gotas contendo vitaminas, minerais, sais de reidratação oral ou medicamentos (WHO, 2010). Entretanto, enquanto a meta é de 80%, a taxa mundial de aleitamento materno exclusivo nesse período é de apenas 41% (WHO, 2018), sendo esse *gap* parcialmente explicado pelo consumo de fórmulas infantis.

Até o presente momento, nos primeiros dois anos de vida, os estudos de microbiota intestinal realizados com a dieta como principal exposição focaram-se principalmente na investigação da diferença de padrões de composição entre bebês em aleitamento materno exclusivo (AME) quando comparados à bebês alimentados somente ou também com fórmulas infantis (não-AME), sendo muitos desses estudos financiados por indústrias de produtos alimentares infantis. Ano após ano, essas indústrias investem cada vez mais fortemente na tentativa de parear a composição nutricional das fórmulas infantis com o leite materno, todavia a composição da microbiota entre crianças em AME e em não-AME se mostrou discrepante em estudos isolados (BEZIRTZOGLU et al., 2011; GUARALDI & SALVATORE, 2012; AZAD et al., 2013b; DAVIS et al., 2016; BRINK et al., 2020; MA et al., 2020), e até mesmo em estudo de revisão (FABIANO et al., 2021) conduzido por autores vinculados à uma das maiores produtoras de fórmula infantil no mundo, sendo incluídos artigos com esse mesmo conflito de interesse na revisão.

Ainda, um estudo de metanálise incluiu sete estudos não citados anteriormente que investigaram o efeito do AME e não-AME na composição da microbiota intestinal, sendo estes localizados por cinco diferentes países, sendo três dos Estados Unidos, um do Canadá, um do Haiti, um da África do Sul e um de Bangladesh. Todos estudos utilizaram o sequenciamento do 16s rRNA para análise da microbiota intestinal e quanto às categorias de consumo, cinco estudos apresentaram três categorias de aleitamento materno (AME, não-AME e não-AM – não amamentados) e dois estudos com duas categorias de aleitamento materno (AME e não AME). O número total de bebês ≤ 6 meses de idade incluídos na metanálise foi de 684. Os

resultados indicaram que bebês não-AME ou com duração menor de AME nos primeiros 6 meses de vida possuíam maiores valores nos parâmetros de diversidade alfa (número de OTU's, índice de Shannon e de Chao1) , maior idade da microbiota intestinal, composição bacteriana mais parecida com a microbiota intestinal adulta, maior abundância relativa de bactérias com vias fisiológicas relacionadas ao metabolismo de carboidratos e menor abundância relativa de bactérias com vias fisiológicas relacionadas ao metabolismo lipídico, desintoxicação e metabolismo de cofatores e vitaminas, quando comparados à bebês AME (HO et al., 2018).

Essa díade entre leite materno *versus* fórmula infantil já é bem documentada e possui grande robustez de evidências, todavia, abarca apenas uma parcela do período dos dois primeiros anos de vida. Nas últimas décadas, em escala global e inclusive nas faixas etárias de introdução alimentar, há ascensão significativa no consumo de alimentos que sofreram ultraprocessoamento (AUP) que, junto às fórmulas infantis (que também são AUP), podem ser um dos principais responsáveis pelo desmame precoce (MONTEIRO et al., 2013).

De acordo com a classificação NOVA, esses alimentos, em geral, são produzidos por grandes corporações e têm como características serem prontos ou semi-prontos para o consumo, embalados, práticos para serem levados para qualquer lugar, acessível em custo e em disponibilidade nos estabelecimentos, com longa vida de prateleira sem prejuízo sensorial pelo uso de conservantes e hiper-palatáveis por adição de produtos sintéticos e/ou ingredientes culinários como sal, açúcar e/ou gorduras em grande quantidade (MONTEIRO et al., 2010). A composição dos AUP, pelo uso de intensivo de refinamento das matérias-primas ou mesmo a substituição de matérias-primas naturais por compostos artificiais, é deficiente em carboidratos complexos e fibras alimentares, necessários para a atividade das bactérias degradadoras de polissacarídeos complexos produtores de metabólitos benéficos à saúde humana, e possuem excesso de gorduras saturadas e açúcares simples, fatores que fazem a qualidade da dieta ser inversamente proporcional ao seu consumo (MOUBARAC et al., 2017; DA COSTA LOUZADA et al., 2018).

1.6 Estudos de consumo de AUP e microbiota intestinal nos primeiros anos de vida

A literatura científica foi revisada minuciosamente, inicialmente, em busca de artigos que avaliassem o consumo de AUP e com algum parâmetro da microbiota intestinal como desfecho aos 12 meses de vida. Entretanto, conforme suspeita, a escassez de artigos identificados obrigou a ampliação dos critérios de inclusão para estudos com crianças na faixa de 6 meses a 5 anos, podendo também ter crianças além dessa idade, desde que a maioria dos participantes pertençam a ela. Assim, foram identificados oito estudos, sendo três transversais (37,5%), três ensaios clínicos randomizados (37,5%) e duas coortes prospectivas (25%). Em relação ao local dos estudos, tanto continentes como quanto aos países, um estudo foi conduzido na América do Norte, especificamente nos Estados Unidos; dois estudos foram conduzidos em Burkina Faso, na África, provenientes de um estudo multicêntrico que também foi conduzido na Itália. Além desses dois estudos multicêntricos, mais dois estudos ocorreram na Europa, sendo um na Espanha e um na Dinamarca; dois estudos foram conduzidos na Oceania, sendo um na Nova Zelândia e um na Austrália; e um estudo foi conduzido na Ásia, no país da Indonésia. Nenhum estudo foi conduzido na América do Sul, sendo o único continente sem representação, além da Antártida. Abaixo, segue os estudos identificados:

De Filippo et al. (2010) avaliaram crianças de um a seis anos sem uso de antibióticos e/ou hospitalizações nos seis meses anteriores às coletas do estudo residentes em uma comunidade rural de Burkina Faso (n=14) e crianças na mesma faixa etária residentes na área urbana de Florença, na Itália (n=15), sem descrição de como ocorreu o recrutamento. Apesar da alta prevalência de morbidades na infância em Burkina Faso, a medida de circunferência braquial não indicou desnutrição moderada ou grave. A avaliação das práticas alimentares ocorreu via questionário alimentar de três dias e entrevista com as mães das crianças africanas, onde foram apresentadas diferenças marcantes entre a dieta tradicional da comunidade rural de Burkina Faso (rica em alimentos in natura e fibras e pobre em proteínas animais e gorduras) e da dieta ocidental da comunidade urbana de Florença (rica em gorduras, proteínas e açúcares refinados e pobre em fibras, sendo documentado o consumo de queijos e snacks e de açúcar refinado podendo ser proxy para guloseimas e bebidas açucaradas). Amostras fecais foram coletadas por médicos e armazenadas em *ultra freezer* até a extração do DNA. Os achados foram que a riqueza e biodiversidade das crianças italianas foi menor comparado às amostras de Burkina Faso; maiores abundâncias relativas de bactérias gram positivas versus gram negativas (70,4% versus 29,1%) no grupo das crianças italianas, enquanto na comunidade africana ocorreu o inverso (37,4% gram positivas e 58,5% gram negativas); a abundância relativa de *Firmicutes* e *Proteobacteria* foram maiores que as crianças africanas (63.7% versus

27.3% e 6.7% versus 0.8%, respectivamente), enquanto a abundância relativa de *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* foi menor que a das crianças europeias (6,7% versus 10.1% e 22.4% versus 57,7%, respectivamente); *Prevotella*, *Xylanibacter* (*Bacteroidetes*) e *Treponema* (*Spirochaetes*) foram exclusivamente encontradas nas crianças africanas; *Enterobacteriaceae*, como *Shigella* e *Escherichia*, foram significativamente mais abundantes nas crianças italianas ($p < 0.05$).

Laursen et al. (2016) realizaram um estudo composto por uma sub-amostra de crianças nascidas a termo, sem morbidade associada ou uso recente de antibióticos, pertencentes às coortes dinamarquesas SKOT I (n=114) e SKOT II (n=113), com amostras fecais aos 9 e 18 meses de vida. A dieta dos participantes foi avaliada via registros alimentares de sete dias pelos responsáveis pelas crianças, onde tamanho das porções foram mensurados via foto e medidas caseiras. O consumo de queijos aos nove meses foi associado ao índice de Shannon ($p < 0,001$) nas coortes SKOT I e II, enquanto não foi associado significativamente a outros grupos de AUP como cereais matinais ($p = 0,525$), doces ($p = 0,218$), bebidas açucaradas ($p = 0,826$) e fast-foods ($p = 0,233$).

Outro estudo de De Filippo et al. (2017) estudou crianças saudáveis de dois a oito anos sem uso de antibióticos, probióticos e hospitalizações nos últimos seis meses, sendo onze de uma comunidade rural de Burkina Faso, oito de uma pequena cidade de Burkina Faso, cinco de famílias com bom poder aquisitivo da capital de Burkina Faso e treze da área urbana de Florença, na Itália, sem descrição de como ocorreu o recrutamento. A avaliação das práticas alimentares ocorreu via questionário alimentar de quatro dias e entrevista com as mães das crianças africanas, que revelaram padrões alimentares tradicionais na comunidade rural e pequena cidade de Burkina Faso (rica em alimentos in natura e fibras e pobre em proteínas animais e gorduras), misto entre dieta tradicional e ocidental na capital de Burkina Faso (acréscimo de pães, leite, queijos e iogurte, ovos, sucos de frutas, salgadinhos, doces de confeitaria e diversos tipos de carnes e peixes, inclusive peixes congelados, no máximo três vezes por semana) e dieta ocidental no grupo italiano (rica em gorduras, proteínas e açúcares refinados e pobre em fibras, sendo documentado o consumo de queijos e snacks e de açúcar refinado podendo ser proxy para guloseimas e bebidas açucaradas). Amostras fecais foram coletadas duas horas após a primeira refeição do dia pelos responsáveis ou médicos e armazenadas em *ultra freezer* até a extração do DNA. A abundância relativa de *Bacteroidetes* foi significativamente menor nos grupos de dieta ocidentalizada (32,6% na capital de Burkina Faso e 25,9% em Florença) em comparação à dieta tradicional (68,6% na comunidade rural e

47,7% na pequena cidade de Burkina Faso); *Firmicutes* foram significativamente mais abundantes em dietas ocidentais (57,5% na capital de Burkina Faso e 60,2% em Florença) comparado à comunidade rural de Burkina Faso (20,2%); *Actinobacteria* foram significativamente mais abundantes no grupo da capital de Burkina Faso (6,74%) em comparação aos demais (3,6% em Florença; 1,11% na pequena cidade e 0,17% na área rural de Burkina Faso); *Spirochaetes* foram significativamente mais abundantes na comunidade rural de Burkina Faso (>1%) em comparação aos grupos de dieta ocidentalizada (~0% na capital de Burkina Faso e Florença); a abundância relativa no nível de filo foi significativamente superior na pequena cidade de Burkina Faso em comparação aos grupos com dieta ocidentalizada; *Prevotellaceae*, a família mais abundante nos grupos de dieta tradicional (66,8% na área rural e 41,1% na pequena cidade de Burkina Faso) foram significativamente mais abundantes em comparação à dieta ocidentalizada (10,4% na capital de Burkina Faso e 0,44% em Florença; a comunidade rural de Burkina Faso possuiu menores abundâncias relativas de *Bacteroidaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Porphyromonadaceae* e *Rikenellaceae* em comparação aos demais grupos, tal como foram *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae* em comparação com grupos de dieta ocidentalizada; *Lachnospiraceae incertae sedis*, *Roseburia* e *Dorea* foram reduzidos nos grupos de dieta tradicional versus dieta ocidental, inversamente ao que ocorreu com as abundâncias de *Bacteroides* e *Bifidobacterium*; a abundância de *Bilophila*, *Sutterella*, *Parasutterella*, *Odoribacter* e *Clostridium cluster XIVa* (que inclui *Clostridium spp.*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Lachnospira*, *Roseburia* e *Butyrivibrio*) foi maior nos grupos de dieta ocidental; a comunidade rural possuiu menores valores de alfa diversidade em relação aos demais grupos ($p < 0,05$) análises de beta diversidade demonstraram uma discrepância significativa entre a comunidade rural de Burkina Faso e a de Florença (UniFrac não ponderado, $p = 0,0001$; UniFrac ponderado $p = 0,0001$; Bray-Curtis $p = 0,0001$).

Leong et al. (2018) realizaram uma investigação na Nova Zelândia, que avaliou bebês aos 7 e 12 meses de vida, nascidos a termo e sem morbidade associada ($n = 206$), recrutados em uma maternidade e alocados aleatoriamente após estratificação para paridade e escolaridade materna nos grupos controle ($n = 101$) e *baby-led weaning* ($n = 105$). Entre as categorias de análise de dieta do estudo, obtidas via registro alimentar feito pelos responsáveis em três dias na semana, sendo dois dias úteis e um dia no final de semana por três semanas, embora não haja descrição de quais alimentos específicos pertençam a elas, considerou-se aqui as categorias de “doces” e “comidas saborosas” como sendo de AUP, uma vez que a maior parte do consumo de doces nessa faixa etária é baseada em bolachas recheadas, balas, chocolates e bebidas

açucaradas, enquanto que comidas saborosas possui a conotação convergente a de alimentos hiper palatáveis, como a da definição dos AUP. A ingestão de doces aos doze meses foi significativamente associada aos parâmetros de alfa-diversidade aos doze meses (valor de p não informado), enquanto o consumo aos sete meses não possuiu associação com a alfa-diversidade aos doze meses (índice de Shannon: $p=0,337$; OTU's: $p=0,127$). Não houve associação entre “comidas saborosas” e composição da microbiota intestinal aos sete e aos doze meses. O estudo conta com limitações importantes, como a falta de clareza na categorização da dieta, mas também o importante fato de as amostras fecais para análise de microbiota intestinal terem sido colhidas pelos responsáveis pelas crianças a partir das fraldas, aos sete e doze meses de idade, e armazenadas em freezer doméstico até entrega à Universidade de Otago, podendo ter havido diversas formas de contaminação e mau armazenamento até as análises. Ainda, embora seja descrito que não tenha havido diferenças significativas na idade materna, índice de massa corporal, paridade, educação materna, privação familiar, sexo e peso ao nascer, apenas uma parte dos bebês do estudo tiveram amostras fecais coletadas ($n=74$).

Karvonen et al. (2019) conduziram um ensaio clínico randomizado duplo cego estadunidense, denominado VDAART, com crianças acompanhadas da gestação aos três anos de vida, recrutadas em três centros clínicos. Os grupos deste ensaio consistiram em mulheres, com dez a dezoito semanas gestacionais e sem histórico próprio ou do companheiro para asma e alergias ($n=880$), randomizadas nos grupos que receberam 4000 UI de vitamina D + vitaminas pré-natais ou 400 UI de vitamina D + vitaminas pré-natais. Amostras fecais das crianças aos três anos de vida ($n=502$) foram coletadas pelos responsáveis e armazenadas em freezer até o sequenciamento. A dieta das crianças foi avaliada aos três anos com base em um questionário de frequência alimentar e o consumo de fast foods foi avaliado pela pergunta “Com que frequência a criança comeu algo em um restaurante de fast food no último mês?”. A abundância relativa de *Dorea* foi maior em crianças com sobrepeso/obesas em comparação com crianças sem sobrepeso/obesas, se as crianças consumissem fast food uma vez por semana.

Matsuyama et al. (2019) desenvolveram um estudo australiano realizado com crianças participantes do estudo CHaRM e do ensaio multicêntrico GUMLi, comparou desfechos na infância entre crianças do grupo controle ($n=24$) versus crianças que consumiram leite fortificado com probióticos e prebióticos ($n=24$), sendo acompanhadas de zero aos dois anos de idade. O questionário EAT FFQ foi aplicado para avaliar a dieta dos participantes ao nascimento, três, seis, nove e doze meses. As amostras fecais foram coletadas ao nascimento, um, dois, três, seis, nove, doze meses e vinte e quatro meses. Em análise de OTU's,

independentemente do grupo, *Lachnospiraceae* (ID363400) foi associada positivamente ao consumo de carnes ultraprocessadas (aos 0, 3 e 6 meses), batatas chips (aos 3 e 6 meses), bebidas açucaradas (aos 3 e 6 meses) e snacks (aos 3 e 6 meses) – sem descrição de quais alimentos pertencem a esse grupo, mas que é usado comumente para petiscos ultraprocessados; *Lachnospiraceae* (ID55403) foi associada negativamente ao consumo de snacks (aos 6 meses), batatas chips (aos 6 meses) e bebidas açucaradas (aos 6 meses); *Lachnospiraceae* (ID588429) foi associada negativamente ao consumo de carnes processadas (aos 3 meses); *Blautia* foi associada positivamente ao consumo de snacks (aos 3 meses) e carnes ultraprocessadas (aos 3 meses); *Ruminococcus* foi associada negativamente ao consumo de carnes ultraprocessadas (aos 3 meses) e snacks (aos 6 meses); *Bacteroides* foi associada negativamente ao consumo de batatas chips (aos 6 meses); e *Clostridium* foi associada positivamente ao consumo de carnes ultraprocessadas (ao nascimento), batatas chips (aos 6 meses), bebidas açucaradas (aos 6 meses) e snacks (aos 6 meses).

Khine et al. (2020), em estudo na Indonésia, avaliaram crianças abaixo de quatro anos (n=157), nascidas de parto vaginal sem uso de antibiótico intraparto, sem morbidade grave ao nascimento e amamentadas exclusivamente por pelo menos seis meses, sendo recrutadas em três centros comunitários de saúde. As práticas alimentares foram avaliadas por meio de questionário de frequência alimentar. Amostras fecais das crianças foram coletadas pelas próprias mães, sem descrição de como estas amostras foram armazenadas até a extração de DNA. Em análise de correlação de Spearman, crianças de seis a doze meses tiveram a abundância relativa de *Bifidobacterium* associada positivamente ao consumo de fast foods ($p < 0,01$), *Blautia* associada positivamente ao consumo de snacks ($p < 0,05$), *Megasphaera* associada negativamente ao consumo de snacks ($p < 0,05$), e *Erysipelotrichaceae* associado positivamente ao consumo de snacks ($p < 0,01$), enquanto bebidas açucaradas não foram associadas a nenhuma bactéria; crianças de doze a vinte e quatro meses tiveram abundância relativa de *Streptococcus* e *Lachnospira* negativamente associada ao consumo de snacks ($p < 0,05$), além de *Akkermansia* associada negativamente ao consumo de bebidas açucaradas ($p < 0,05$), enquanto consumo de fast foods não foi associado a nenhuma bactéria; crianças de vinte e quatro a quarenta e oito meses tiveram abundância relativa de *Ruminococcaceae* associado negativamente ao consumo de snacks ($p < 0,01$), *Succinivibrio* associado negativamente ao consumo de fast foods ($p < 0,05$) e *Parabacteroides* associada positivamente ao consumo de bebidas açucaradas ($p < 0,01$) e negativamente ao consumo de snacks ($p < 0,01$).

Por fim, Gómez-Martin et al. (2022) estudaram uma sub-amostra da coorte prospectiva espanhola Early-MicroHealth, acompanhando as práticas alimentares e microbiota intestinal de crianças aos 15 dias, 3 meses, 6 meses e 1 ano de vida. Os dados de práticas alimentares foram coletados via questionários de frequência alimentar preenchidos pelo responsável pela criança e as amostras de microbiota intestinal foram coletadas e armazenadas também pelo responsável, até a entrega no laboratório para análise via qPCR. Ao primeiro ano de vida (n=68), foi identificado em análise multivariada (ajustada por sexo, antibióticos intraparto, IMC materno pré-gestacional, tipo de parto e local de convivência) que lactentes que consumiam guloseimas, sendo a maioria dos itens englobados nessa categoria considerados AUP, aos 12 meses tiveram níveis mais baixos de *Bifidobacterium* ($p=0,03$).

Os estudos supracitados, para melhor visualização, foram resumidos e compilados (Tabela 1) segundo autor e ano de publicação, local do estudo, delineamento do estudo, amostra (n), população de estudo e achados referentes à AUP e microbiota intestinal.

Tabela 1. Tabela-resumo dos estudos identificados sobre consumo de AUP e microbiota intestinal nos primeiros anos de vida.

| Autor (ano) | Local de estudo | Delineamento | Amostra (n) | População de estudo | Desfecho |
|--------------------------|-----------------------|----------------------------|---|-------------------------------------|--|
| De Filippo et al. (2010) | Burkina Faso e Itália | Transversal | n=29: Burkina Faso (n=14) e Itália (n=15) | Crianças de 1 a 6 anos | Nas crianças italianas, com AUP na dieta, a abundância relativa de <i>Firmicutes</i> e <i>Proteobacterias</i> foram maiores que as crianças africanas com dieta tradicional, enquanto a abundância de <i>Actinobacteria</i> e <i>Bacteroidetes</i> e a alfa diversidade foram menores. |
| Laursen et al. (2016) | Dinamarca | Coorte prospectiva | n=227 | Crianças avaliadas aos 9 e 18 meses | Consumo de queijos, aos 9 meses, foi associado positivamente aos parâmetros de alfa diversidade. Consumo de fast foods, doces e bebidas açucaradas não foram associados à composição da microbiota. |
| De Filippo et al. (2017) | Burkina Faso e Itália | Transversal | n=37: aldeia rural de Burkina Faso (n=11), pequena cidade de Burkina Faso (n=8), capital de Burkina Faso (n=5) e cidade urbana da Itália (n=13) | Crianças de 2 a 8 anos | O consumo de AUP, presente na capital de Burkina Faso e Itália, foi associado aos parâmetros de alfa diversidade, beta diversidade e a todos níveis taxonômicos. |
| Leong et al. (2018) | Nova Zelândia | Ensaio clínico randomizado | n=72: BLW (n=36) e controle (n=37). | Crianças avaliadas aos 7 e 12 meses | Aos 12 meses, o consumo de doces foi associado aos parâmetros de alfa diversidade. |

| | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|---|-------------------------------------|---|
| Karvonen et al. (2019) | Estados Unidos | Ensaio clínico randomizado | n=502 (casuística dos grupos não especificada) | Crianças até os 3 anos | A frequência de consumo de fast foods foi associado positivamente a abundância de <i>Dorea</i> |
| Matsuyama et al. (2019) | Austrália | Ensaio clínico randomizado | n=48: leite fortificado (n=24) e controle (n=24). | Crianças acompanhadas até os 2 anos | O consumo de um ou mais tipos de AUP foi associado às abundâncias relativas de <i>Lachnospiraceae</i> (ID363400), <i>Lachnospiraceae</i> (ID55403), <i>Lachnospiraceae</i> (ID588429), <i>Blautia</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Bacteroides</i> e <i>Clostridium</i> |
| Khine et al. (2020) | Indonésia | Transversal | n=157: <1 mês (n=25); 1 a <3 meses (n=10); 3 a <6 meses (n=23); 6 a <12 meses (n=35); 12 a <24 meses (n=26); 24 a 48 meses (n=38) | Crianças até 4 anos | O consumo de AUP foi associado à abundância relativa de <i>Bifidobacterium</i> , <i>Blautia</i> , <i>Megasphaera</i> e <i>Erysipelotrichaceae</i> dos 6 aos 12 meses; à <i>Streptococcus</i> , <i>Lachnospira</i> e <i>Akkermansia</i> dos 12 aos 24 meses; e à <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Succinivibrio</i> e <i>Parabacteroides</i> dos 24 aos 48 meses. |
| Gómez-Martin et al. (2022) | Espanha | Coorte prospectiva | n=68 | Crianças com 1 ano | Aos 12 meses, lactentes que consumiam guloseimas tiveram níveis mais baixos de <i>Bifidobacterium</i> . |

*Todos os estudos utilizaram amostra de conveniência

2 JUSTIFICATIVA

A hipótese de Barker sobre origem do desenvolvimento de doenças e perfil de saúde considera que certas exposições precoces poderiam programar funções metabólicas relacionadas a eventos adversos à saúde ao longo da vida, tais como obesidade, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (BARKER, 2012). Isso ocorreria por meio de modificações na citogênese e organogênese, alterações nas respostas metabólicas e endócrinas e efeitos epigenéticos que alterariam a expressão gênica, sendo o estresse gerado por esses ajustes orgânicos adaptativos um importante fator para repercussões a curto, médio e longo prazo, no âmbito da saúde física e mental do sujeito (VICTORA et al., 2008; WOPEREIS et al., 2014; DARLING et al., 2020).

Assim, o conceito dos primeiros 1000 dias, que soma os 270 dias aproximados de duração da gestação aos 730 dias correspondentes aos dois primeiros anos de vida, disseminado pela primeira vez em 2010 por Hillary Clinton, então Secretária de Estado dos Estados Unidos, enfatizado como período fundamental por Victora e colaboradores em artigo publicado em 2008 (VICTORA et al., 2008), foi adotado como “janela de oportunidades” na dialética saúde-doença ao longo da vida.

No Brasil, embora avanços importantes nos parâmetros de saúde materno-infantil tenham ocorrido no começo deste século, há muito a progredir, principalmente em áreas menos abastadas desse tão heterogêneo país. Prova disso é que, em 2010, o Brasil ocupou o posto de 10º país com maior número de nascimentos prematuros (WHO, 2012), sendo a região Norte a de maior prevalência com 36,1% com acentuada discrepância em relação às regiões mais ricas do país, como a Sul que possuía prevalência de 6,9%. Isso poderia ser explicado, ao menos em parte, com indicadores de assistência pré-natal inadequados na região, sendo que 22% das mulheres não compareceram a nenhuma consulta de pré-natal e 23% compareceram apenas de 1 a 3 consultas, decorrentes do pouco acesso à informação, geográfico e/ou financeiro (MIRANDA et al., 2012). Em Cruzeiro do Sul/AC, no Estudo de Saúde Materno Infantil no Acre (MINA-Brasil), a qual esse presente projeto é vinculado, foi encontrada alta prevalência de cegueira noturna gestacional (11,5%; IC 95% 9,97% a 13,25%) e anemia materna (39,4%; IC 95% 36,84% a 41,95%) no parto, associada entre outros à baixa taxa de comparecimento em consultas de pré-natal e episódio de malária gestacional (NEVES et al., 2019).

Quanto à malária, a região da Amazônia Legal, que abrange o município de Cruzeiro do Sul/AC, possuiu no ano de começo do Estudo MINA-Brasil 99% dos casos notificados no

Brasil (WHO, 2016), sendo o município responsável por aberrantes 15,1% de todos os casos nacionais, com índice parasitário anual (IPA) – calculado a partir do número de exames positivos de malária por mil habitantes – de 231,9, sendo o único município do país com malária endêmica em área urbana (BRASIL, 2017). No Estudo MINA-Brasil, episódios de malária pré-natal (74,6% de *Plasmodium vivax*) foram diagnosticados em 8,0% das mulheres e foram associados a uma redução média nos escores z de peso ao nascer de 0,35 (IC 95% 0,14 a 0,57) e nos escores z de comprimento ao nascer de 0,31 (IC 95% 0,08 a 0,54), em comparação com gestações sem malária (PINCELLI et al., 2018). Ainda, ao primeiro ano de vida 2,2% das crianças estavam raquíticas e 6,6% acima do peso, sendo que ter ocorrido ao menos um episódio de malária relatado no primeiro ano de vida foi associado a 0,58 (IC 95% 1,05 a 0,11) z-score menor (DAL BOM et al., 2019).

O aleitamento materno, que é considerado um agente protetor quanto a incidência de doenças e principal fator atenuante das iniquidades entre países e/ou regiões sócio e demograficamente mais abastadas, em Cruzeiro do Sul/AC foi realizado de forma exclusiva aos 30 dias de vida em apenas 36,7% (IC 95% 33,6% a 39,8%) das crianças participantes do Estudo MINA-Brasil, com duração mediana de 16 dias. O uso de chupeta e a ocorrência de sibilos foram associados à redução da razão de tempo (TR) para duração do aleitamento materno exclusivo em 33% (TR 0,67; IC 95% 0,58 a 0,77) e 19% (TR 0,80; IC 95% 0,70 a 0,93), respectivamente (MOSQUERA et al., 2019).

Foram identificados apenas dois estudos de microbiota intestinal na região Norte do Brasil, onde ambos eram com população de estudo formada apenas por adultos e com delineamento transversal (PIRES et al., 2019; SCHAAN et al. 2021). Ainda, foram identificados apenas poucos estudos no mundo que utilizaram o consumo de AUP como exposição nos primeiros anos de vida, tendo a microbiota intestinal na infância como um dos desfechos (DE FILIPPO et al., 2010; LAURSEN et al., 2016; DE FILIPPO et al., 2017; LEONG et al., 2018; KARVONEN et al., 2019; MATSUYAMA et al., 2019; KHINE et al., 2020; GÓMEZ-MARTIN et al., 2022), sendo apenas dois desses estudos de coorte prospectiva (LAURSEN et al., 2016; GÓMEZ-MARTIN et al., 2022).

Portanto, há escassez de estudos com a temática de microbiota intestinal na região Norte do Brasil e investigações populacionais no início da vida que avaliem dados de consumo de AUP, principalmente de forma longitudinal e prospectiva que engloba desde o período gestacional, possibilitando a avaliação dos efeitos de exposições no início da vida na composição da microbiota intestinal.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar o impacto do consumo de alimentos ultraprocessados (AUP) nos parâmetros de diversidade (alfa e beta) da microbiota intestinal no primeiro ano de vida dos participantes do Estudo MINA-Brasil.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever características socioeconômicas e demográficas, ambientais, obstétricas e neonatais, histórico de morbidade, uso de medicamentos e práticas alimentares segundo métricas da microbiota intestinal no primeiro ano de vida;
- Investigar o impacto na taxonomia da microbiota intestinal pelo consumo de AUP no primeiro ano de vida.

4 MÉTODOS

4.1 Delineamento, localização e população de estudo

O presente projeto utiliza dados do “Estudo MINA-Brasil – Materno-Infantil no Acre: coorte de nascimentos da Amazônia Ocidental Brasileira”, com auxílio para projeto temático concedido pela FAPESP (processo no 2016/00270-6). O Estudo MINA-Brasil investiga condições de saúde e nutrição materno-infantis no município de Cruzeiro do Sul, estado do Acre. Trata-se de uma coorte de nascimentos de base populacional, com coleta de dados na linha de base para todas as internações para parto no Hospital Estadual da Mulher e da Criança do Juruá, única maternidade do município e referência da região do Vale do Juruá, entre julho de 2015 e junho de 2016, com etapas de seguimento de mães e seus filhos no período pós-natal (CARDOSO et al., 2020).

O município de Cruzeiro do Sul é o segundo mais populoso e polo econômico do estado do Acre, região Norte do Brasil, e localiza-se a 636 km da capital Rio Branco (Figura 2), fazendo fronteira com o Peru, o estado do Amazonas e mais quatro municípios acreanos. Com base no último Censo Demográfico do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de 2010, Cruzeiro do Sul possuía população total de 78.507 habitantes, com distribuição percentual homogênea entre os sexos, sendo 70,5% da população residente em área urbana. O município apresentava apenas 12,7% dos domicílios com esgotamento sanitário adequado e ínfimos 3,7% de domicílios em vias públicas com urbanização adequada, considerando a presença de bueiro, calçada, meio-fio e pavimentação (IBGE, 2010). Ainda segundo o IBGE, em 2015, ano de início do Estudo MINA-Brasil, a população estimada de Cruzeiro do Sul era de 81.515 habitantes, sendo 71,8% residentes na área urbana, com taxas de natalidade de 13,8/1000 e de mortalidade infantil de 17,2/1000 (IBGE, 2017). O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de Cruzeiro do Sul foi 0,664, o que situa esse município na faixa de IDH médio (entre 0,600 e 0,699), e o Índice de Gini de 0,64, demonstrando iniquidades locais.

O Estudo MINA-Brasil foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FSP/USP, sob protocolos nº 872.613 em 13/11/2014 (Anexo 1) e nº 2.358.129 em 30/10/2017 (Anexo 2). A participação no estudo foi voluntária, assegurando-se sigilo das informações obtidas e caracterizada via assinatura do Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido - TCLE na linha de base (Anexo 3) e no seguimento de do primeiro ano de vida (Anexo 4).



Figura 2. Localização espacial do município de Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil.

4.2. Coleta de dados na linha de base

A população de estudo foi constituída a partir do convite à participação de todas as puérperas cujo parto foi realizado no Hospital Estadual da Mulher e da Criança do Vale do Juruá, a partir de visitas diárias realizadas pela equipe de pesquisa formada por pós-graduandos da Faculdade de Saúde Pública (FSP-USP), que residiam em Cruzeiro do Sul/AC durante o período de coleta de dados da linha de base. Critérios de inclusão foram: mães- bebês nascidos vivos cujo nascimento ocorreu no período de 1 de julho de 2015 a 30 de junho de 2016; e ter residência fixa em Cruzeiro do Sul.

Ao todo, 1881 partos foram rastreados entre 1 de julho de 2015 a 30 de junho de 2016 no Hospital do Vale do Juruá no período de um ano, correspondendo a 96% dos partos da região nesse período. Desses, 16 eram natimortos, 112 abortos, 184 mães recusaram a participação e 18 não foram captados pelos pesquisadores, apesar das visitas diárias ao hospital, sendo altas hospitalares que ocorreram antes do contato com a equipe de pesquisa. Assim, 1551 crianças nascidas vivas e suas mães concordaram em participar do Estudo MINA-Brasil na linha de base.

Dessas, 305 residiam em áreas rurais remotas, dificultando o contato para seguimento; desta forma, para análise prospectiva, 1246 crianças foram consideradas elegíveis ao acompanhamento longitudinal.

A coleta de dados ao nascimento ocorreu em até 24 horas após o parto para obtenção de dados socioeconômicos, ambientais, gestacionais e obstétricos, por meio de questionários eletrônicos semi-estruturados com auxílio do programa CPro (*US Census Bureau, ICF International*). Após consentimento à participação no estudo, informações dos prontuários hospitalares foram também coletadas pela equipe de pesquisa, constando, entre outros, número de visitas pré-natais, tipo de parto, idade gestacional, sexo, peso e comprimento ao nascer, índice de Ápgar e intercorrências neonatais (conforme diagnóstico do pediatra responsável).

Foi calculado o índice de riqueza baseado na posse de bens de consumo e utilidades domésticas no domicílio, segundo análise de componentes principais (FILMER & PRITCHETT, 2001). O primeiro componente principal explicou 22,8% da variação entre as famílias, o qual foi usado para derivar pesos para cada item considerado dentro do domicílio: televisão (0,215), aparelho de som (0,101), computador (0,324), aparelho de DVD (0,206), internet (0,309), TV a cabo (0,253), fogão a gás (0,133), geladeira (0,244), liquidificador (0,294), ferro elétrico (0,322), micro-ondas (0,277), jogo de sala (0,252), telefone fixo (0,223), telefone celular (0,228), bicicleta (0,050), motocicleta (0,211), carro (0,274), posse de terras (-0,040) e criação de gado (-0,038). Os escores gerados foram então somados para produzir um índice de riqueza domiciliar estimado, posteriormente categorizado em quintis. Os autores justificam que a adoção desse método caracteriza mais adequadamente a situação econômica familiar se comparado à informação de renda mensal familiar, a qual é considerada uma informação imprecisa e de difícil obtenção (FILMER & PRITCHETT, 2001).

Quanto à idade gestacional final, destaca-se que 34,1% das participantes da coorte de nascimentos tiveram acompanhamento pré-natal adicional junto ao Estudo MINA, com exames ultrassonográficos realizados em equipamento portátil da marca SonoSite TITANTM (SonoSite Inc., Bothell, WA, EUA), por equipe médica previamente treinada em protocolos padronizados. Inicialmente derivada do relato da data da última menstruação, a partir dos exames de ultrassonografia a idade gestacional no período pré-natal foi confirmada pela estimativa advinda da mensuração das medidas biométricas fetais. Para essas participantes, foi possível proceder à comparação da estimativa da idade gestacional no acompanhamento pré-natal no Estudo MINA com a informação coletada em prontuário hospitalar na maternidade. Segundo análise de Bland-Altman, observou-se diferença de apenas 0,39 semanas gestacionais (IC 95% 0,27; 0,50; limites de concordância entre -2,35 e 3,13) entre as abordagens para definição da

idade gestacional final (LOURENÇO et al., 2020). Os bebês foram classificados segundo idade gestacional ao nascer prematuro (>21 e <37 semanas de gestação), a termo (≥ 37 e <42 semanas de gestação) ou pós termo (≥ 42 semanas de gestação) (BRASIL, 2010b).

O peso ao nascer foi mensurado pela equipe de profissionais da maternidade, por meio de balanças médicas pediátricas digitais da marca Toledo Junior (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Bernardo do Campo, SP, Brasil), com capacidade para 15 kg e variação de 0,005 kg. Foi realizada checagem diária das balanças por estudante de doutorado do Estudo MINA durante todo o período de coleta de dados. O peso ao nascer dos bebês foi classificado segundo critérios estabelecidos pela OMS (WHO, 1995) como baixo peso ao nascer, quando <2500 g, peso adequado ao nascer, quando ≥ 2500 g e <4000 g, e macrosomia, quando >4000 g. Menos de 1% do total de bebês nascidos vivos participantes da coorte de nascimentos do Estudo MINA (0,7%), não apresentaram registro da informação de idade gestacional final no prontuário hospitalar. Nesses casos, a abordagem adotada foi a imputação dos valores referentes ao percentil 50, ou escore Z igual a zero, para classificação das características do nascimento segundo curvas de tamanho ao nascer do Projeto Intergrowth-21st para dimensões do recém-nascido (VILLAR et al., 2014).

Foram calculados os escores-Z do tamanho ao nascer dos bebês na linha de base do Estudo MINA de acordo com os padrões internacionais estabelecidos pelo Projeto Intergrowth-21st. Os valores para os índices de peso e comprimento em relação à idade gestacional final, segundo sexo, foram obtidos a partir de ferramenta gratuita disponível no website do Projeto Intergrowth-21st (VILLAR et al., 2014).

Dados de aleitamento materno foram coletados por meio da importação dos registros dos prontuários médicos da maternidade do Hospital da Criança e da Mulher do Vale do Juruá e por meio de entrevista realizada pela equipe de campo do Estudo MINA-Brasil ao leito, sendo obtidas informações sobre aleitamento materno na hora dourada/primeira hora de vida da criança (88,5%) e no primeiro dia de vida (94,3%), respectivamente.

Aos 6 meses de vida, foi realizado acompanhamento presencial com avaliação antropométrica das crianças para massa corporal (peso) em balança digital calibrada com capacidade de 150kg e 0,1kg de precisão (UM061, Tanita Corporation) por meio do método de diferença entre o peso da mãe com a criança e só da mãe, e comprimento realizado via placa de medição portátil com 0,1mm de precisão, colocada em superfície plana e segura. Todas medidas foram realizadas em duplicatas para cálculo de média das medidas obtidas, sendo adotada margem de tolerância de 100g para massa corporal e 0,2 mm para comprimento entre os valores coletados. Índices antropométricos foram classificados em escore Z, para idade e sexo, segundo

curvas de crescimento da OMS (De ONIS et al., 2007). Além disso, questionários estruturados foram aplicados para atualizar os dados referentes às condições socioeconômicas, características demográficas e práticas alimentares das crianças. Neste seguimento, aos 6 meses após o parto, 795 crianças foram avaliadas, obtendo-se taxa de retenção na coorte de 64%.

4.3 Acompanhamento e coleta de dados ao primeiro ano de vida

No seguimento do primeiro ano de vida, as avaliações abrangeram a faixa etária de 10 a 15 meses de vida, já que pela data de nascimento as crianças não completariam 12 meses todas simultaneamente e avaliá-las somente com 1 ano completo não seria logística e financeiramente inviável. Entre 2016 e 2017, as avaliações foram previamente agendadas por prospecção ativa via telefone por alunos de graduação dos cursos de Nutrição e de Saúde Pública da FSP/USP, membros do Estudo MINA-Brasil, no Laboratório de Entrevistas Telefônicas da FSP/USP, treinados por material quanto aos procedimentos de abordagem e orientação junto às mães e ou responsáveis pelas crianças do estudo. A rotina de busca telefônica abarcou todos os períodos (manhã, tarde e noite) dos dias úteis, considerando os fusos horários entre as localidades, buscando maximizar as chances de sucesso de contato. Ainda, na semana anterior e no dia anterior à data de agendamento, lembretes com local, data, horário e orientações eram dirigidas aos responsáveis pelas crianças no número de telefone que se obteve sucesso de contato, tanto em ligações quanto em mensagens de texto SMS.

Em campo, as avaliações do seguimento do primeiro ano de vida ocorreram sempre aos sábados no período da manhã entre agosto de 2016 a julho de 2017, em Unidades Básicas de Saúde (UBS) A equipe de campo foi composta por professores da Universidade Federal do Acre (UFAC) do Campus Floresta e da USP, e estudantes de graduação em Enfermagem e Ciências Biológicas da UFAC, submetidos a treinamento prévio pela equipe de pesquisa

As mães ou acompanhantes das crianças que chegavam ao local da avaliação eram recepcionadas por um membro da equipe, que então realizava a aplicação do questionário semiestruturado em papel, com coleta de dados sociodemográficos, de morbidades e histórico de saúde da mãe e da criança, de práticas alimentares infantis, de cuidados gerais com a criança, de desenvolvimento infantil, de antropometria da mãe e da criança e de coleta de sangue da criança, sendo esses tópicos distribuídos em oito blocos. Após realização da entrevista para os

blocos iniciais do questionário, o entrevistador acompanharia a mãe ou acompanhante da criança para as etapas subsequentes.

No exame antropométrico, foram registrados sexo da criança, data de nascimento, peso da mãe/acompanhante, peso combinado da mãe/acompanhante com o bebê, comprimento da criança em centímetros e perímetro cefálico da criança em centímetros. Caso o bebê estivesse acompanhado pela mãe biológica, foi coletada a altura materna em centímetros (cm). Todas as aferições foram realizadas em duplicata por membros da equipe de pesquisa de campo previamente treinados segundo protocolos padronizados pela OMS e pelo Ministério da Saúde do Brasil. Os equipamentos utilizados foram calibrados diariamente, antes do início dos exames antropométricos, a fim de evitar erros de mensuração (WHO, 1995; BRASIL, 2011).

Para obtenção do peso do bebê pelo método combinado, a mãe ou acompanhante da criança foi pesada(o) segurando-o em seu colo. Os adultos foram orientados a se pesar com o mínimo de roupas possível, descalços e sem objetos nos bolsos, com os bebês também devendo estar em trajes leves e descalços, além de não usarem adornos e fralda no momento da mensuração. A mãe ou acompanhante da criança foi posicionada(o) no centro da balança, com postura ereta, pés unidos e equilibrada(o) com distribuição do peso equivalente entre as duas pernas e com o olhar direcionado ao horizonte, segurando o bebê da forma mais imóvel possível, sem balanço. Após estabilização do valor de peso no leitor digital, o peso combinado foi anotado pelo pesquisador (em quilogramas, até a primeira casa decimal), com repetição do procedimento para aferição em duplicata, aceitando-se diferença de até 100g entre as medidas. Caso ocorresse discrepância acima disso, seria utilizado o valor médio entre as medidas. O peso do bebê foi calculado a partir da diferença entre a medida do peso combinado e a medida do peso da mãe ou acompanhante, realizado com o mesmo rigor de procedimento.

Para aferição do comprimento do bebê, correspondente à distância em centímetros (cm) da sola dos pés descalços ao topo da cabeça, utilizou-se um infantômetro horizontal com precisão de 0,1cm. A aferição foi realizada com o bebê em posição horizontal, em superfície plana e firme, com roupas leves, sem adornos ou calçados e com os cabelos soltos. Com o auxílio da mãe ou acompanhante, posicionou-se o bebê com a cabeça orientada segundo plano de Frankfurt, encostada na parte fixa do equipamento, pescoço reto, queixo afastado do peito, ombros em contato com a superfície de apoio, braços estendidos ao longo do corpo, nádegas em contato com a superfície, joelhos levemente pressionados, de forma a manter as pernas esticadas e calcanhares apoiados na superfície. Após união dos pés do bebê com alinhamento entre dedos e calcanhares, deslizou-se a parte móvel do infantômetro até que entrasse em contato com a sola dos pés. A medida aferida foi registrada pelo pesquisador, até o primeiro

milímetro (mm) correspondente. Realizou-se duplicata, com aceitação de diferença máxima de 0,2 cm (2 mm) entre as medidas, ocorrendo uso do valor médio em caso de divergência.

Os valores aferidos foram informados à mãe ou acompanhante do bebê, bem como o IMC e escores-Z dos índices antropométricos calculados a partir deles, sendo ainda anotados na caderneta da criança e realizadas explicações concernentes ao estado nutricional exibido pela criança.

Para a avaliação do ganho de peso gestacional considerou o peso gestacional aferido na segunda avaliação subtraído pelo peso gestacional aferido na primeira avaliação, dividido pela idade gestacional na segunda avaliação subtraída pela idade gestacional primeira avaliação, seguindo as recomendações do *Institute of Medicine* (IOM, 2009). O cálculo utilizado para obtenção do ganho de peso gestacional semanal considerou o peso gestacional aferido na segunda avaliação subtraído pelo peso gestacional aferido na primeira avaliação, dividido pela idade gestacional na segunda avaliação subtraída pela idade gestacional na primeira avaliação.

Para as coletas de sangue, amostras de sangue venoso de 5 ml foram obtidas por equipe treinada, que, em laboratório de campo instalado na Universidade Federal do Acre, centrifugaram e separaram o plasma e do soro, sempre sob proteção da luz, os congelando e transportando, em gelo seco, para o Laboratório de Nutrição Humana do Departamento de Nutrição da FSP/USP, onde foram armazenados a -70°C para análises posteriores. A avaliação de reservas orgânicas de ferro, a determinação de ferritina (F) e de receptor solúvel de transferrina (sTRF) utilizou *kits* pela técnica de ELISA (Ramco Laboratories, EUA) e a concentração sérica de 25-hidroxi vitamina D3 ocorreu por método HPLC (HP-1100, sistema HPLC; Hewlett Packard). Aproximadamente, 70% das crianças participantes do seguimento do primeiro ano de vida tiveram amostras sanguíneas coletadas com sucesso (CARDOSO et al., 2020).

Ao todo, 1242 crianças foram elegíveis ao seguimento devido a 4 óbitos desde o nascimento e obteve-se dados de 784 participantes, gerando uma taxa de comparecimento de 63%. As informações coletadas em papel nas avaliações foram registradas no programa CSPro e enviadas regularmente à coordenação do Estudo MINA-Brasil, estabelecida na FSP/USP. Após exportação e organização dos dados, o banco para armazenamento e manejo das informações foi submetido a rotinas de limpeza e verificação, além de análises de consistência, por uma equipe de pesquisadores de pós-doutorado. Manteve-se contato permanente com a equipe de campo no seguimento para quaisquer reforços de treinamentos, correções e revisões de dados.

4.4 Coleta de dados de consumo alimentar infantil

Dados de aleitamento materno e alimentação complementar foram coletados ao nascimento e atualizados nos seguimentos no primeiro ano de vida. A avaliação de aleitamento materno e consumo alimentar no seguimento do primeiro ano de vida ocorreu por meio de questionário semiestruturado que avaliou se a criança mamava no peito (sim/não); se já mamou ou ainda mama, até que idade recebeu apenas o leite materno (ainda recebe apenas leite materno/número de dias ou meses que recebeu apenas leite materno); idade de desmame (em dias/semanas/meses); se utiliza mamadeira/chuquinha (sim/não) e se utiliza chupeta (sim/não). Além disso, foi aplicado recordatório alimentar de 24 horas semiestruturado referente à alimentação habitual no dia anterior à entrevista de, onde alimentos ou grupos de alimentos, incluindo alimentos regionais, foram perguntados ao responsável pela criança, sendo eles: leite materno, água, chá, leite de vaca/soja, iogurte, suco de fruta natural, suco industrializado, refrigerante, café, mingau, fruta, bala/pirulitos/guloseimas, biscoito doce/salgado, salgadinho de pacote, carnes, feijão, arroz/pão/macarrão, batata/macaxeira/inhame, legumes, verduras folhosas, salsicha/linguiça/hambúrguer/nuggets, macarrão instantâneo e outros alimentos não listados, a especificar (campo em aberto). Para cada um dos alimentos ou grupos, nove categorias eram opções de resposta (não consumiu, ao acordar, meio da manhã, almoço, meio da tarde, jantar, antes de dormir, madrugada, não sabe), podendo, em caso afirmativo de consumo, ser assinaladas mais de um período. Dentre os alimentos previamente inseridos no questionário e também mencionados pelo entrevistado, foram considerados como AUP: suco em pó ou com compostos artificiais, refrigerante, guloseimas, biscoito recheado, salgadinho de pacote, salsicha, sopa e macarrão instantâneo, achocolatado, gelatina, sorvete, iogurte e bolo industrializados (NOGUEIRA et al., 2022).

4.5 Coleta de dados para análises de microbiota intestinal

Amostras de fezes foram coletadas por meio de *swab* anal das crianças participantes do seguimento do primeiro ano de vida do Estudo MINA-Brasil, sendo apenas uma amostra por indivíduo, para avaliação de microbiota intestinal. As amostras foram mantidas a -20 graus

Celsius até o transporte para o laboratório de Nutrição Humana da FSP/USP. Em seguida, essas foram processadas para extração de DNA pelo kit ZymoBionics™ DNA Miniprep Kit (Zymo Research Corp., Irvine, CA, USA) e posteriormente sequenciadas. Análise de controle de qualidade de DNA e organização da caracterização da microbiota pela amplificação do domínio V4 do segmento 16S ribossomal bacteriano foram realizadas em método automatizado MiSeq (Illumine Inc.), conduzido pela Macrogen Inc (*Macrogen Korea, Seoul, Rep. of Korea*).

Com auxílio do programa Torrent Browser para a remoção de sequências policlonais e de baixa qualidade, os arquivos .sff gerados foram analisados utilizando a ferramenta QIIME versão 2.4 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) de acordo com o protocolo de análise do Brazilian Microbiome Project (CAPORASO et al., 2010; CAPORASO et al., 2012; PYLRO et al., 2014). Leituras menores de 50 pb foram descartadas e as sequências remanescentes foram agrupadas em unidades operacionais taxonômicas (OTU), baseando-se em similaridade de 97%, utilizando o algoritmo UPARSE versão 7 (EDGAR, 2013). OTUs foram classificadas taxonomicamente com auxílio do software QIIME 2.4, utilizando como referência o banco de dados Greengenes versão 13.8 (DeSANTIS et al., 2006; COLE et al., 2014), resultando na formação de árvores filogenéticas com formato padrão Newick. Um fluxograma para as etapas procedimentais para os dados de microbiota intestinal é ilustrado na Figura 3.

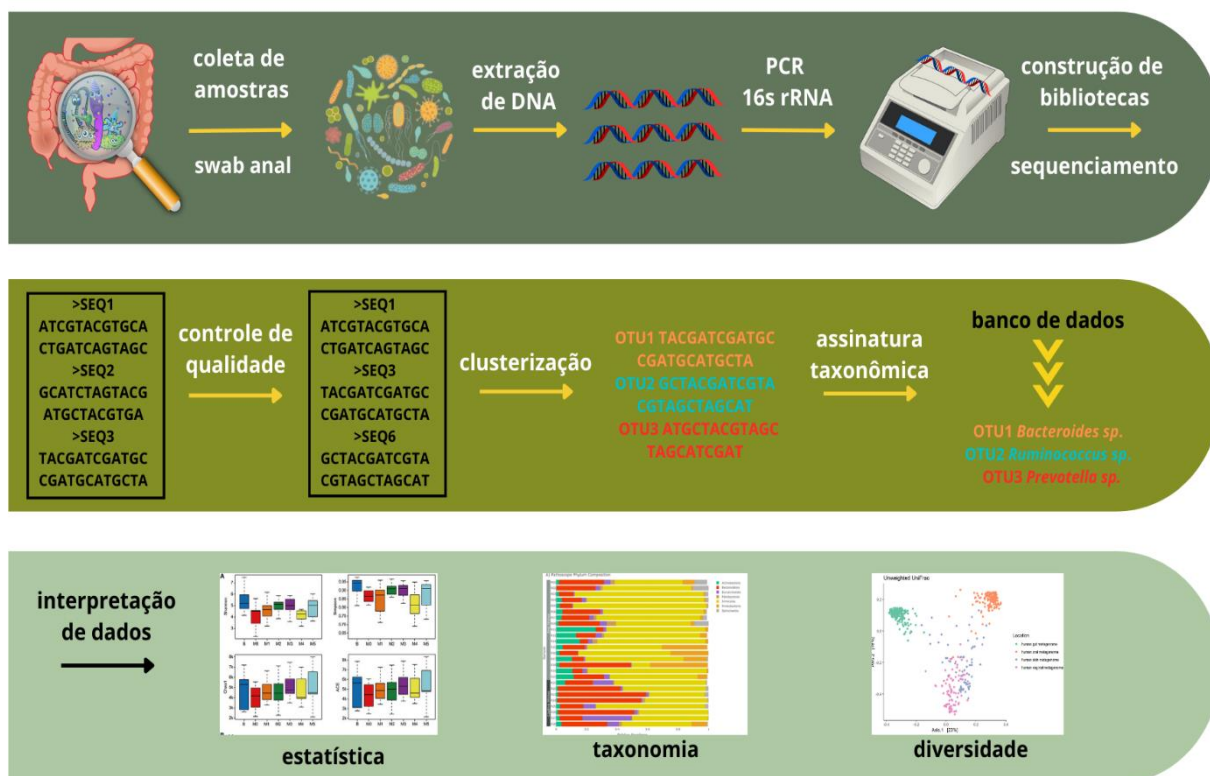


Figura 3. Fluxograma das etapas de coleta, processamento e tratamento de dados de microbiota intestinal.

4.6 Análise de dados

Os dados do Estudo MINA-Brasil estão organizados em arquivos no software Stata (StataCorp, College Station, TX, EUA), com rotinas de conferência e limpeza de variáveis. Foram realizadas tabelas de análise bruta de associação das covariáveis aos parâmetros de diversidade alfa da microbiota intestinal (Apêndices 1 a 5), conduzida por teste t para variáveis dicotômicas e ANOVA para variáveis com três ou mais categorias, adotando $p < 0,20$ para seleção inicial (Apêndice 6), seguindo um modelo conceitual hierárquico (Figura 4) para estabelecimento dos níveis de determinação. Para a seleção em cada nível, adotou-se significância $p < 0,05$ nos modelos múltiplos finais. Modelos de regressão múltiplos foram analisados considerando-se o consumo de AUP (frequência de só um tipo de AUP ou frequência de AUP agrupada) e uma variável combinada criada com prática de aleitamento materno e consumo de ao menos um tipo AUP no seguimento do primeiro ano de vida (mama sim/não e

consome AUP sim/não) como variável independente e os parâmetros de alfa diversidade da microbiota intestinal como variável dependente, estimando-se medidas de efeito ajustadas e respectivos intervalos de 95% de confiança.

Os parâmetros de alfa diversidade estabelecidos para riqueza foram o número total de espécies observadas, definido como o número absoluto de OTUs presentes na amostra (KUCZYNSKI et al., 2012), e o índice Chao1, que é um método não paramétrico com ênfase nas espécies de baixa abundância relativa que estima as OTUs com base nas OTUs observadas (CHAO, 1984; HUGHES et al., 2001; SCHLOSS & HANDELSMAN, 2005). Quanto à uniformidade, foram utilizados índices não específicos, que consideram esse fator em sua inferência. São eles o índice de Shannon e o índice de Simpson, que, considerando a abundância ecológica relativa, utilizam riqueza ecológica e uniformidade, sendo o primeiro mais afetado pela riqueza e o segundo pela uniformidade (SCHLOSS et al., 2009). Especificamente, o índice de Shannon mede o grau de incerteza em prever que a espécie pertencerá a um indivíduo escolhido ao acaso de uma amostra com S espécies e N indivíduos, com seu valor diretamente proporcional à diversidade (LEMOS et al., 2011). O índice de Simpson, que varia de 0 a 1, mede a probabilidade de dois microrganismos pertencentes à espécies distintas serem escolhidas ao acaso, aumentando à medida que a diversidade também aumenta (SIMPSON, 1949). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas com auxílio do pacote estatístico Stata 13.0 ou superior.

A diversidade beta da microbiota intestinal, também conhecida como dissimilaridade, quantifica as diferenças na composição taxonômica geral entre duas amostras. Diversos índices ou métricas podem ser empregados para sua análise, sendo que cada um deles visa enfatizar aspectos específicos da composição ecológica. Nesse estudo, foram utilizados os índices de Jaccard e de Bray-Curtis e a métrica de distância UniFrac. O índice de Jaccard considera apenas a presença ou ausência de cada bactéria na amostra, desconsiderando as abundâncias de cada bactéria no ecossistema, a fim de determinar quão comum são bactérias pertencerem a uma amostra e não pertencerem à outra. O índice de Bray-Curtis é capaz de determinar o quanto uma amostra se distingue da outra por meio da diferença entre abundâncias de uma bactéria dividida pelo somatório das abundâncias de todas bactérias das amostras. Já a métrica UniFrac, é a única capaz de determinar a distância filogenética das bactérias na comparação entre amostras, explorando diferentes graus de similaridade e expressando a quantidade total de evolução bacteriana única presente em um indivíduo (LOZUPONE & KNIGHT, 2005), sendo que UniFrac não ponderada determina a presença ou ausência de bactérias, enfatizando, em geral, as espécies raras (similar a Jaccard), enquanto a ponderada determina quantitativamente

o comprimento de ramos filogenéticos pela abundância de bactérias, enfatizando as espécies dominantes (similar a Bray-Curtis) (LOZUPONE et al. 2007).

Cada um desses, gera uma matriz que contém para cada amostra (linhas) a (dis)similaridade para qualquer outra amostra (colunas), devendo essa matriz ser comprimida para uma dimensionalidade menor e submetida a técnicas de ordenação para visualização da análise. Nesse estudo, foi empregada a técnica de redução dimensional não linear denominada Análise das Coordenadas Principais (PCoA), que representa graficamente a (dis)similaridade entre amostras ou grupos, sendo aquelas ordenadas mais próximas umas das outras são mais semelhantes do que aquelas ordenadas mais distantes. Aqui, foi realizada uma PCoA para cada parâmetro de beta diversidade, realizada no software R, comparando os grupos da variável combinada de aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida. Em geral, para análises com poucas amostras, a visualização simples de cada ponto gráfico já é suficientemente esclarecedora quanto a diferenciação da diversidade. Todavia, pela grande quantidade de amostras do estudo e com variável de interesse menos radical que outras abordagens de análise (como uma diferenciação entre microbiota de humanos e cachorros, por exemplo), o uso de abordagens de clareza é bastante útil, já que as amostras ou grupos tendem a ficar concentradas mesmo quando há diferença estatística significativa entre elas. Assim, neste estudo foi adotada a configuração de plotagem com elipsoides por grupo, para melhor visualização de suas (dis)similaridades. Quanto à análise estatística, foi realizada a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA/Adonis), que realiza comparações por pares (*pairwise*) entre os grupos da variável combinada, segundo os parâmetros de beta diversidade.

As análises de abundância foram realizadas com plotagem em gráfico de barras da abundância relativa aos níveis taxonômicos de filo, gênero e família, segundo os grupos da variável combinada de aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida. Esses gráficos são bastante úteis para a identificação rápida e fácil de quais bactérias, segundo o nível taxonômico analisado, são muito ou pouco abundantes dentro de cada grupo, porém são impróprias para análise entre grupos, pois a comparação visual na escala percentual tende a enviesar a leitura identificando diferenças errôneas com bactérias muito abundantes, quando essa diferença pode estatisticamente ser insignificante, e não identificar diferenças para aquelas pouco abundantes, quando existe diferença estatística significativa. Assim, tal como para as análises de PCoA, se faz necessário o uso de aparatos estatísticos para elucidar a ausência ou presença de diferenças entre grupos. Uma análise de árvore de calor, abordagem moderna aos *heatmaps* tradicionais por agregar os ramos filogenéticos, que realiza comparação de pares (*pairwise*) da abundância diferencial entre os grupos da variável combinada com teste de

Wilcoxon, ajustado pela taxa de erro FDR, foi realizada utilizando o software R com o pacote Metacoder (FOSTER et al. 2017), para identificação das diferenças entre grupos com embasamento estatístico ainda por meio gráfico, todavia sem os valores dos testes expressos. Por isso, a Análise de Composições de Microbiomas com Correção de Vieses (ANCOM-BC) foi aplicada para determinar os táxons cujas abundâncias absolutas, por unidade, são significativamente diferentes com as mudanças de prática alimentar entre os grupos da variável combinada, também sob o aparato do teste de Wilcoxon ajustado pela FDR, nos níveis taxonômicos de filo, gênero e família, sendo realizada no software R com os pacotes ANCOMBC (LIN & PEDDADA, 2020), sendo seus valores expressos em tabelas.

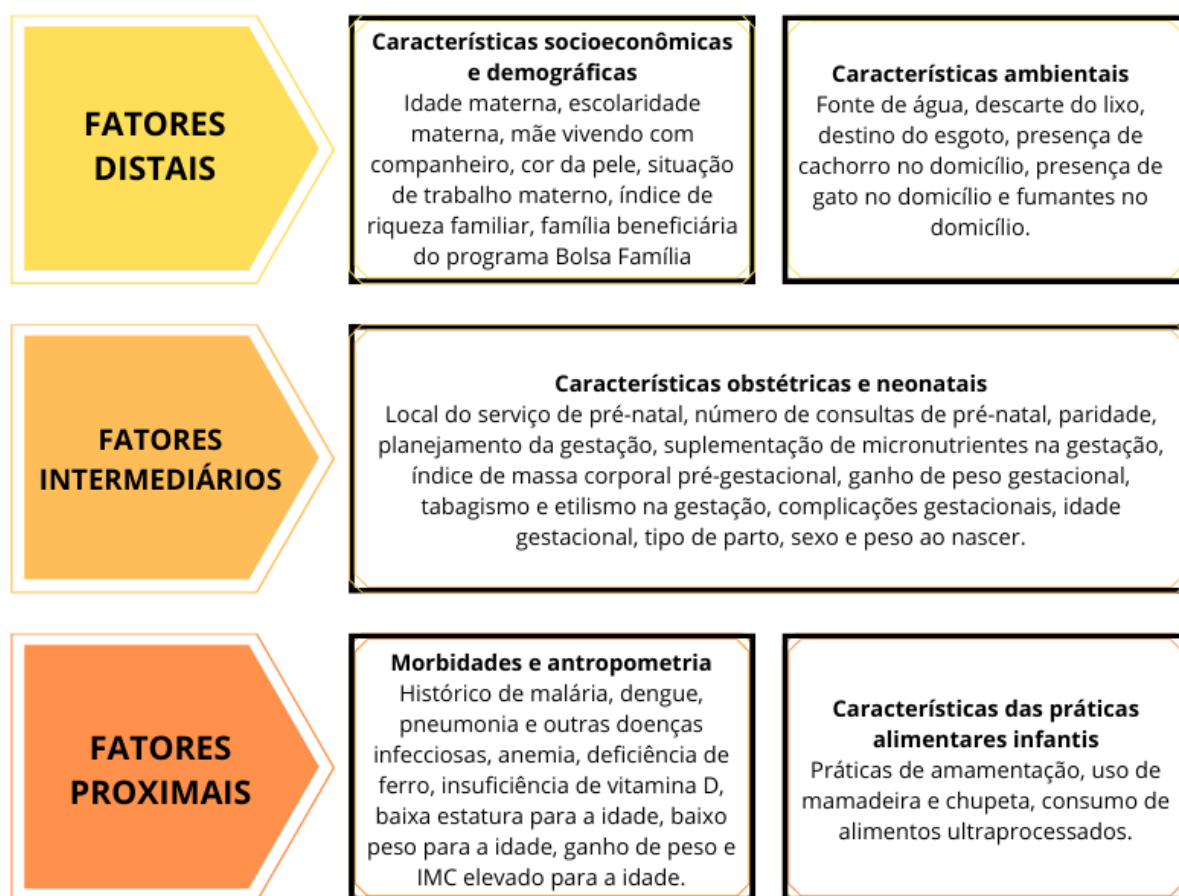


Figura 4. Modelo conceitual hierárquico para seleção de variáveis independentes associadas a composição da microbiota intestinal nos primeiros anos de vida.

5 RESULTADOS

5.1 Fluxograma do seguimento de primeiro ano de vida do Estudo MINA-Brasil

Conforme fluxograma abaixo (Figura 5), no seguimento do primeiro ano de vida, eram elegíveis mil duzentas e quarenta e seis crianças participantes do Estudo MINA-Brasil. Dessas, quatro faleceram, vinte e cinco famílias recusaram continuar participando do Estudo e quatrocentas e trinta e três foram perdidas no seguimento, seja por não terem sido encontradas/contatadas via busca ativa telefônica e/ou presencial, por mudança de município ou para a área rural, ou pelo não comparecimento no dia agendado para avaliação. Das setecentas e oitenta e quatro crianças restantes, vinte eram gêmeas (critério de exclusão desse trabalho) e trinta e seis não tiveram amostras fecais colhidas com sucesso, resultando em uma casuística de setecentas e vinte e oito crianças ao primeiro ano de vida.

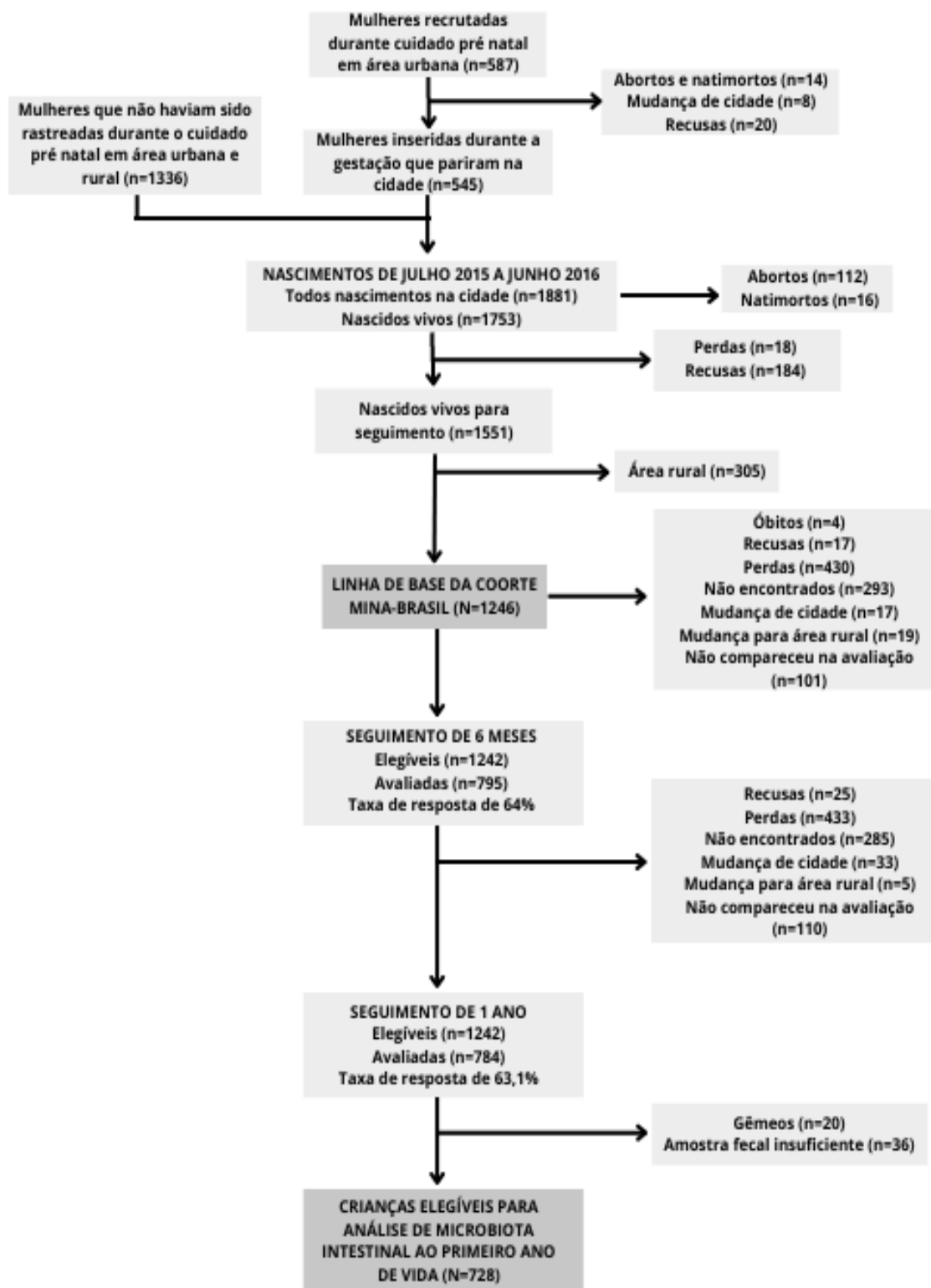


Figura 5. Fluxograma da população de estudo para análises de microbiota intestinal no seguimento do primeiro ano de vida no Estudo MINA-Brasil.

5.2 Alfa diversidade

De acordo com o quadro de modelo conceitual hierárquico (Figura 4), tabelas de análise bruta de associação das covariáveis aos parâmetros de diversidade alfa da microbiota intestinal infantil foram elaboradas, sendo: características socioeconômicas e demográficas (Apêndice 1), fatores ambientais (Apêndice 2), fatores obstétricos e perinatais (Apêndice 3), práticas de alimentação infantil (Apêndice 4) e morbidades e indicadores antropométricos (Apêndice 5). Após, uma tabela das covariáveis selecionadas ($p < 0,20$) para análise de regressão múltipla foi produzida (Apêndice 6).

Na análise de regressão linear múltipla para seleção final das covariáveis, as variáveis escolaridade materna, fumantes no domicílio, primiparidade, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, tipo de parto e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida foram associados ao Número de OTU's. Quanto ao índice de Shannon, as variáveis selecionadas foram escolaridade materna, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, tipo de parto, uso de mamadeira ao primeiro ano de vida e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida. Para o índice de Chao1, as variáveis foram destino do esgoto, fumantes no domicílio, primiparidade, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, peso ao nascer e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida. Já para o índice de Simpson, apenas escolaridade materna e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida foram selecionadas.

Utilizando modelos de regressão mediana múltipla, a frequência de ingestão de AUP e a variável combinada de prática de aleitamento materno e consumo de AUP foram analisadas como variáveis dependentes para parâmetros de diversidade alfa ajustados pelas covariáveis (Tabela 2). A frequência do consumo de AUP maior que 2 vezes ao dia associou-se positivamente com todos os parâmetros de alfa diversidade, enquanto o consumo 1 vez ao dia foi associado positivamente com Simpson. Quanto ao tipo de AUP, o consumo de ao menos um embutido, salgadinho ou macarrão instantâneo associou-se positivamente aos parâmetros de número de OTU's, Shannon e Simpson. Em relação a variável combinada de práticas de aleitamento materno e consumo de AUP, crianças que já estavam desmamadas e que consumiam AUP tiveram associação positiva (valores medianos maiores) com todos parâmetros de alfa diversidade ao serem comparadas às crianças que ainda eram amamentadas e não consumiam AUP (grupo referência).

Tabela 2. Coeficiente de regressão mediana com ajuste múltiplo (IC 95%) de fatores dietéticos segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota intestinal ao primeiro ano de vida.

| | Número de OTU's ^a | Shannon ^b | Chao1 ^c | Simpson ^d |
|--|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Frequência de consumo de AUP (n=727) | | | | |
| Não consome (n=92) | Ref | Ref | Ref | Ref |
| 1 vez ao dia (n=337) | 17,70 (-4,25; 39,65) | 0,0794 (-0,1025; 0,2612) | 25,50 (-11,92; 62,92) | 0,0068 (0,0005; 0,0131)* |
| 2 ou mais vezes ao dia (n=299) | 25,1 (6,70; 43,50)* | 0,1889 (0,0199; 0,3558)* | 39,17 (0,80; 77,55)* | 0,0109 (0,0050; 0,0168)* |
| Frequência de consumo de bebidas açucaradas (n=727) | | | | |
| Não consome (n=278) | Ref | Ref | Ref | Ref |
| 1 vez ao dia (n=272) | 6,00 (-6,92; 18,92) | 0,0056 (-0,0976; 0,1088) | 4,32 (-15,64; 24,32) | 0,0013 (-0,0038; 0,0065) |
| 2 ou mais vezes ao dia (n=177) | 4,5 (-13,86; 22,86) | 0,0629 (-0,0756; 0,2014) | 7,24 (-14,85; 29,33) | 0,0045 (-0,0010; 0,0099) |
| Frequência de consumo de guloseimas (n=727) | | | | |
| Não consome (n=211) | Ref | Ref | Ref | Ref |
| 1 vez ao dia (n=286) | 7,00 (-10,90; 24,90) | 0,0151 (-0,1348; 0,1650) | -4,41 (-20,56; 11,74) | 0,0002 (-0,0045; 0,0049) |
| 2 ou mais vezes ao dia (n=230) | 11,00 (-9,47; 31,47) | 0,1272 (-0,0213; 0,2757) | 8,12 (-16,43; 32,68) | 0,0032 (-0,0009; 0,0072) |

Consumo de ao menos um embutido, salgadinho ou macarrão instantâneo (n=728)

| | | | | |
|---------------------|-----------------------------|---------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| Não consome (n=525) | Ref | Ref | Ref | Ref |
| Consome (n=203) | 11,00 (0,98; 21,02)* | 0,1518 (0,0133; 0,2904)* | 7,31 (-17,97; 32,58) | 0,0046 (0,0004; 0,0088)* |

Variável combinada de prática de aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida (n=728)

| | | | | |
|-----------------------------------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Mama e não consome AUP (n=56) | Ref | Ref | Ref | Ref |
| Mama e consome AUP (n=448) | 21,67 (-3,27; 46,60) | 0,1500 (-0,0714; 0,3715) | 35,23 (-4,24; 74,70) | 0,0081 (-0,001; 0,0162) |
| Não mama e não consome AUP (n=36) | 21,00 (-20,99; 62,99) | 0,2145 (-0,2058; 0,6348) | 48,35 (-34,06; 130,76) | 0,0082 (-0,0048; 0,2127) |
| Não mama e consome AUP (n=188) | 40,00 (12,81; 67,19)* | 0,3369 (0,0933; 0,5805)* | 63,80 (26,38; 101,22)* | 0,0128 (0,0052; 0,0205)* |

AUP: alimentos ultraprocessados; total de observações difere devido ausência de informação.

^a Ajuste para escolaridade materna, fumantes no domicílio, primiparidade, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, tipo de parto e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida (exceto para variável combinada aleitamento materno e consumo de AUP)

^b Ajuste para escolaridade materna, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, tipo de parto, uso de mamadeira ao primeiro ano de vida e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida (exceto para variável combinada aleitamento materno e consumo de AUP)

^c Ajuste para destino do esgoto, fumantes no domicílio, primiparidade, tipo de serviço pré-natal, sexo da criança, peso ao nascer e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida (exceto para variável combinada aleitamento materno e consumo de AUP)

^d Ajuste escolaridade materna e aleitamento materno no seguimento do primeiro ano de vida (exceto para variável combinada aleitamento materno e consumo de AUP)

*p<0,05

5.3 Beta diversidade

As Análises de Coordenadas Principais (PCoA), indicaram, pela ausência de sobreposição exata entre os elipsoides, que há diferenciação entre os grupos da variável combinada de aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, segundo todos índices ou métricas de beta diversidade empregadas no estudo (Jaccard, Bray-Curtis, Unifrac ponderado e não ponderado), conforme observa-se nas Figuras 6 a 9. Os valores de p ajustados por PERMANOVA para comparação entre grupos da variável combinada segundo os parâmetros de beta diversidade são expressos na Tabela 3. Independentemente se os cenários são de diferenciação clara, como os três primeiros parâmetros citados, ou de maior sobreposição, como do Unifrac não ponderado, se faz necessário o uso de testes estatísticos para ponderação do quão dissimilares são os grupos. Na Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA), observou-se que houve dissimilaridade estatisticamente significativa em todos os parâmetros de beta diversidade na comparação entre os pares “Mama e não consome AUP” *versus* “Não mama e consome AUP”; “Mama e consome AUP” *versus* “Não mama e não consome AUP”; e “Mama e consome AUP” *versus* “Não mama e consome AUP”.

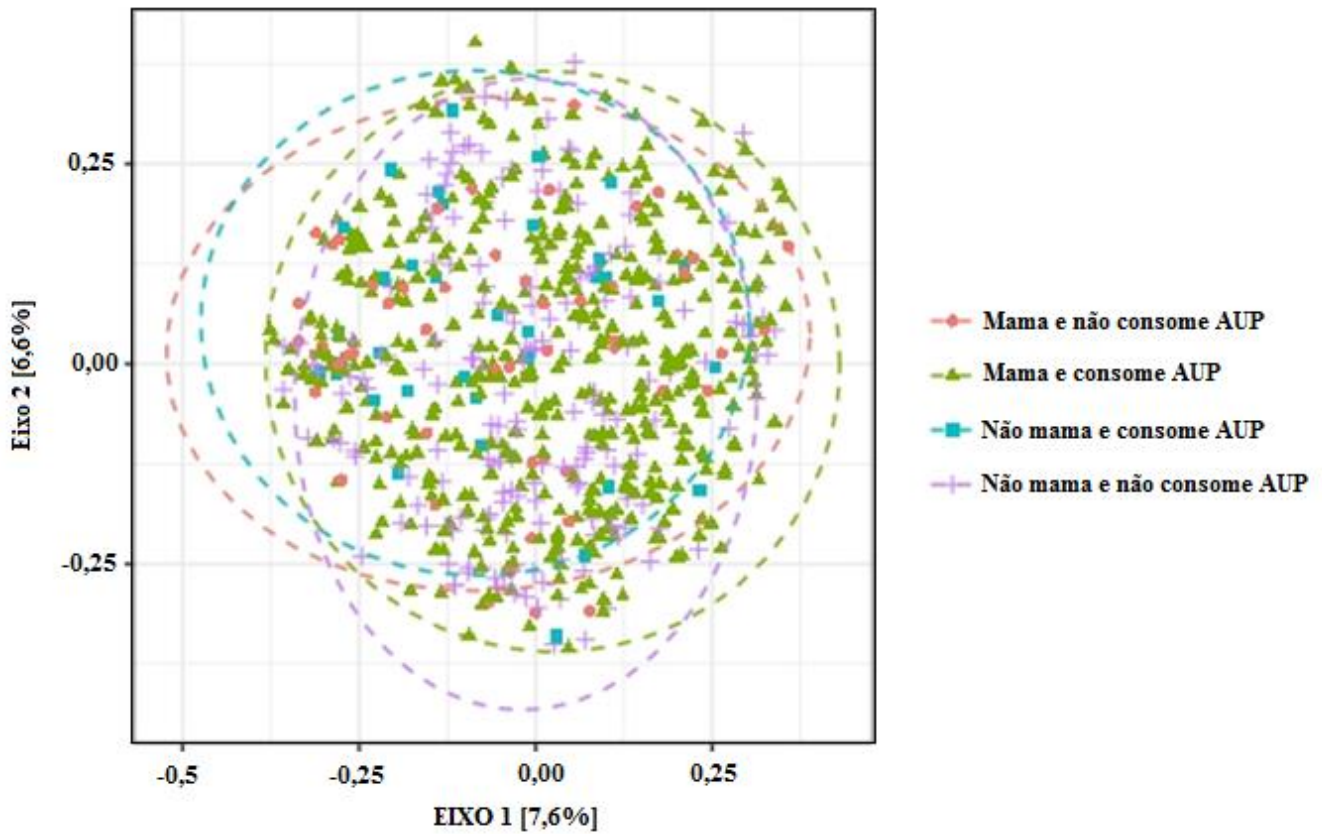


Figura 6. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Bray-Curtis segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

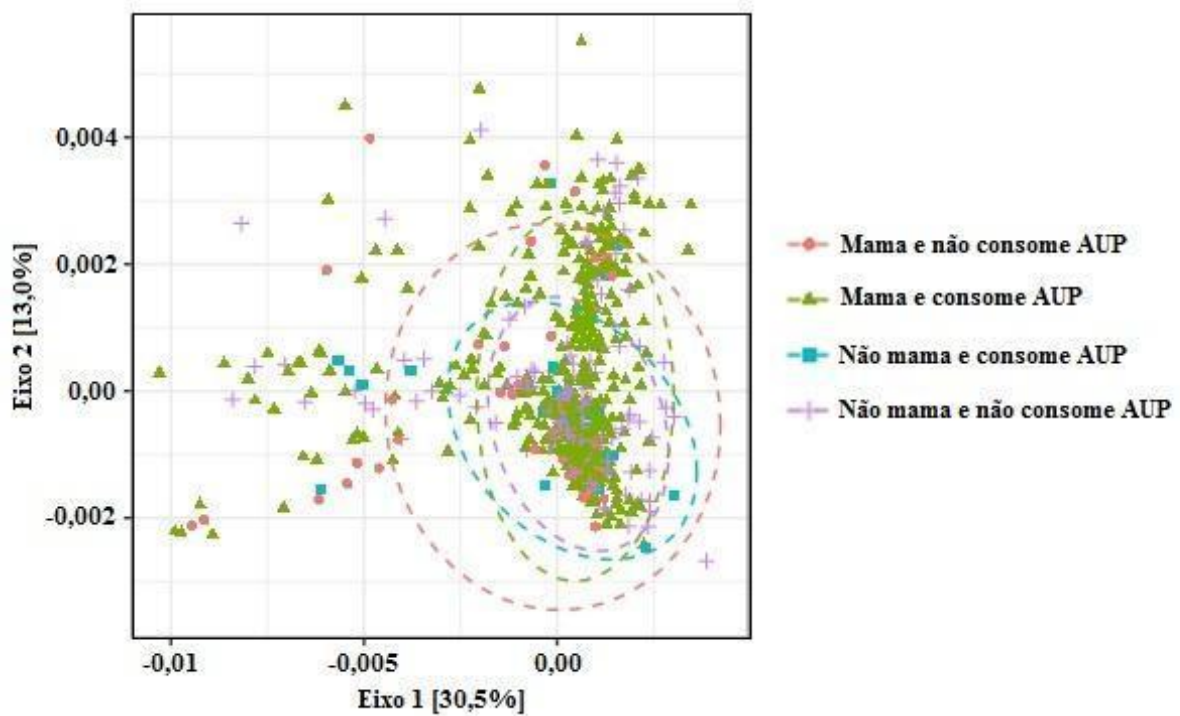


Figura 7. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de Jaccard segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

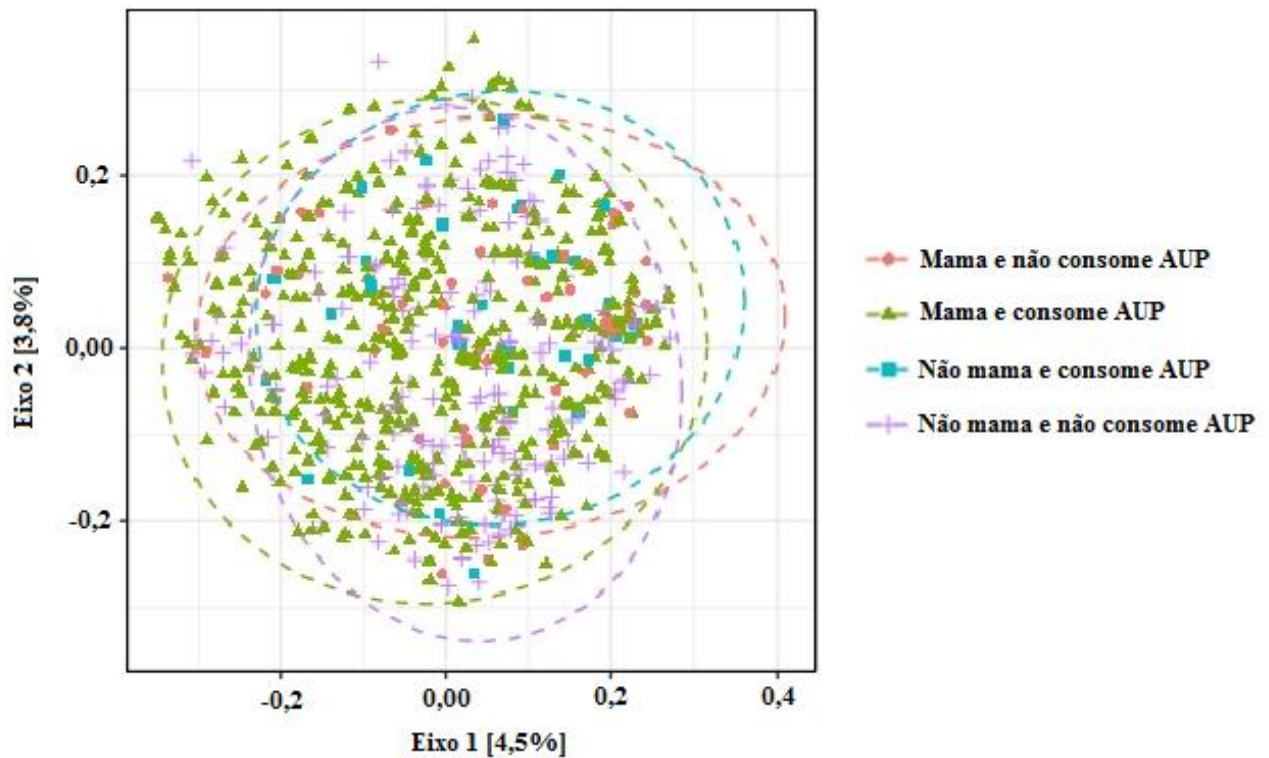


Figura 8. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de UniFrac não ponderado segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

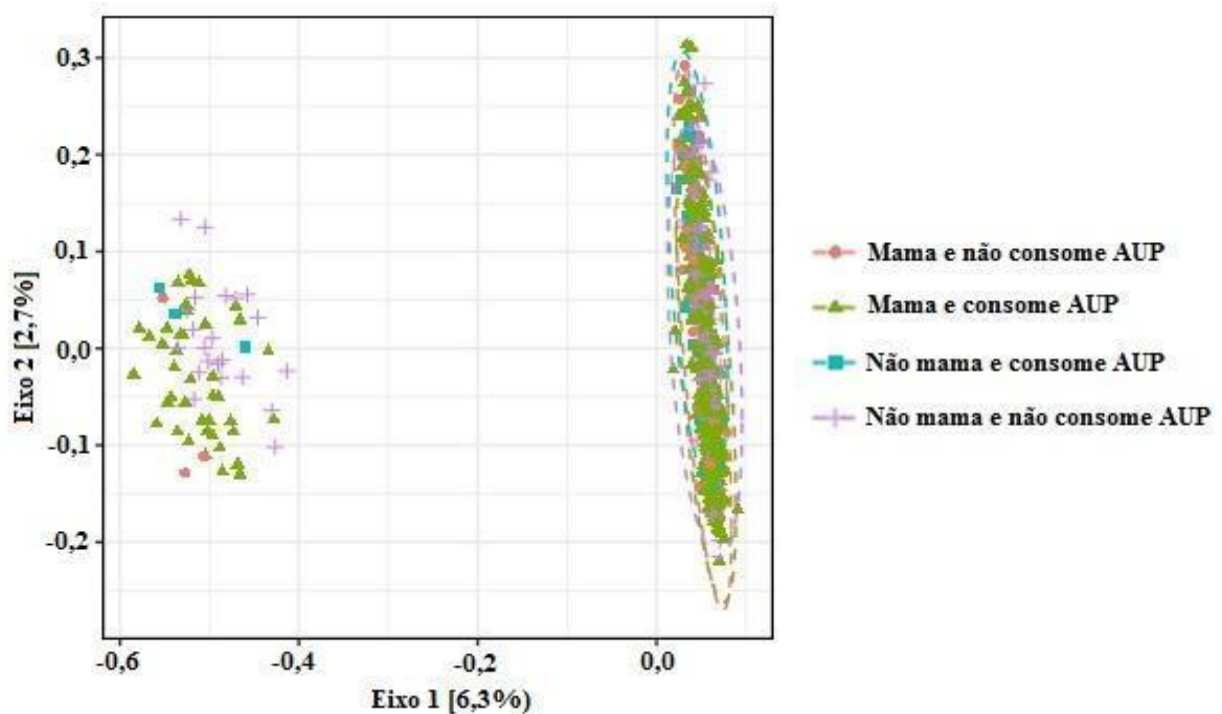


Figura 9. Análise de coordenadas principais (PCoA) de beta diversidade da microbiota intestinal via métrica de UniFrac ponderado segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

Tabela 3. Análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) de prática alimentar segundo parâmetros de beta diversidade da microbiota intestinal ao primeiro ano de vida.

| Grupos de comparação | Bray-Curtis | | Jaccard | | Unifrac ponderado | | Unifrac não ponderado | |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|--------------|-----------------------|--------------|
| | p | p-adj | p | p-adj | p | p-adj | p | p-adj |
| 0 e 1 | 0,002 | 0,002 | 0,006 | 0,007 | 0,136 | 0,142 | 0,221 | 0,221 |
| 0 e 2 | 0,002 | 0,002 | 0,001 | 0,002 | 0,142 | 0,142 | 0,002 | 0,003 |
| 0 e 3 | 0,001 | 0,002 | 0,001 | 0,002 | 0,010 | 0,024 | 0,001 | 0,002 |
| 1 e 2 | 0,001 | 0,002 | 0,001 | 0,002 | 0,012 | 0,024 | 0,001 | 0,002 |
| 1 e 3 | 0,001 | 0,002 | 0,001 | 0,002 | 0,001 | 0,006 | 0,001 | 0,002 |
| 2 e 3 | 0,048 | 0,048 | 0,074 | 0,074 | 0,119 | 0,142 | 0,094 | 0,113 |

0 - Mama e não consome AUP

1 - Mama e consome AUP

2 - Não mama e não consome AUP

3 - Não mama e consome AUP

5.4 Taxonomia e abundância diferencial

Acerca da taxonomia, por meio de gráficos de barra, as abundâncias relativas aos níveis de Filo (Figura 10), Gênero (Figura 11) e Família (Figura 12) são apresentadas, segundo os grupos da variável combinada de aleitamento materno e consumo de AUP. Na árvore de calor de abundância diferencial filogenética (Figura 13), com correção por FDR, as comparações aos pares entre grupos da variável combinada de aleitamento materno e consumo de AUP, embora ainda visual não numérica, se torna mais viável. Para interpretação da árvore, deve-se comparar os grupos da coluna e da linha, sendo que em caso de similaridade (não diferenciação entre os grupos) a árvore fica completamente cinza, enquanto entre grupos com dissimilaridade (diferença taxonômica estatisticamente significativa), os táxons coloridos em marrom são mais abundantes no grupo da coluna, enquanto táxons coloridos em verdes são mais abundantes na categoria da linha. Analisando-a, é possível identificar graficamente a convergência quanto a interpretação do parágrafo anterior, já que não há nenhuma diferença filogenética exposta entre os grupos com mesma prática de aleitamento materno, enquanto em todas comparações entre grupos que praticavam aleitamento materno e com grupos que não praticavam mais o aleitamento materno, independente da prática de consumo de AUP, tiveram diferenças marcantes, sendo o grupo que ainda era amamentado com maior abundância do gênero *Bifidobacterium*, do filo *Actinobacteria* e da classe *Bacilli*. Sendo essas análises e as do item realizadas de forma independente, inclusive utilizando métodos distintos, reforça-se a confiabilidade desse achado. Quanto ao consumo de AUP, embora tenham apresentado maior variação filogenética entre grupos com mesma prática e entre grupos com práticas diferentes, é possível identificar que grupos com consumo de AUP, independentemente da prática de aleitamento materno, apresentaram mais ramos filogenéticos diferenciados que grupos sem consumo de AUP, independentemente da prática de aleitamento materno.

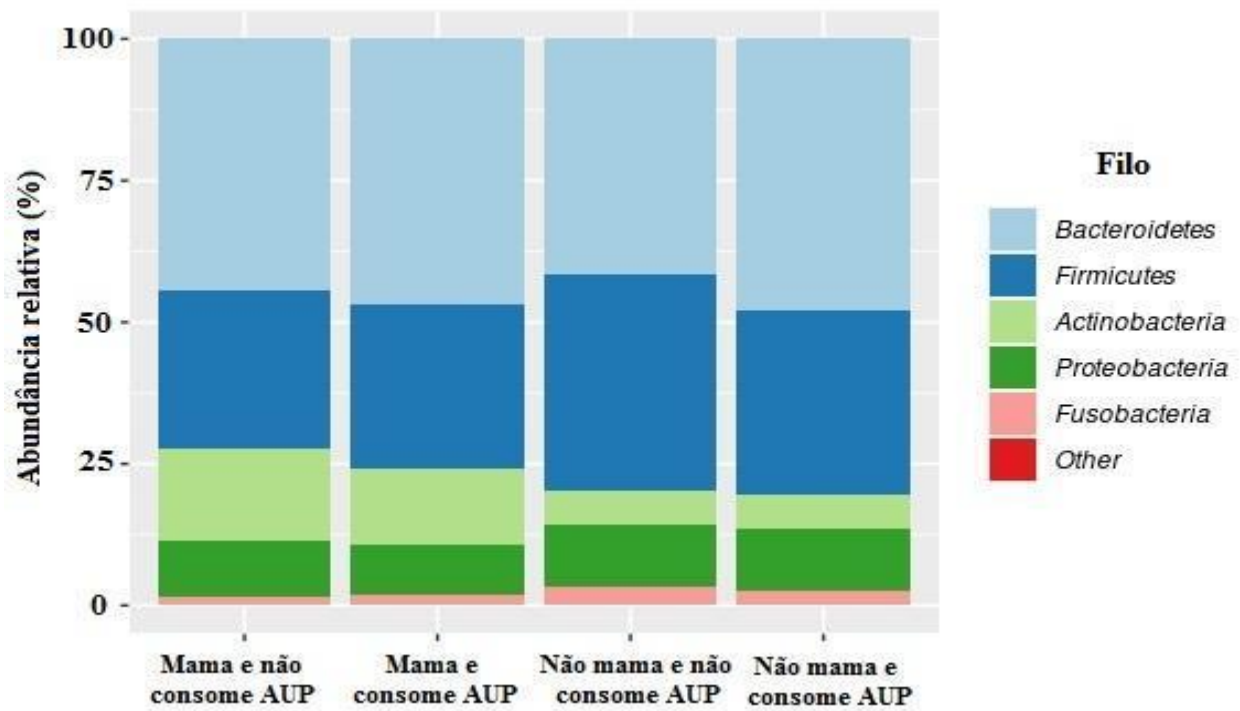


Figura 10. Abundância relativa ao nível taxonômico de Filo segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP alimentares ao primeiro ano de vida.

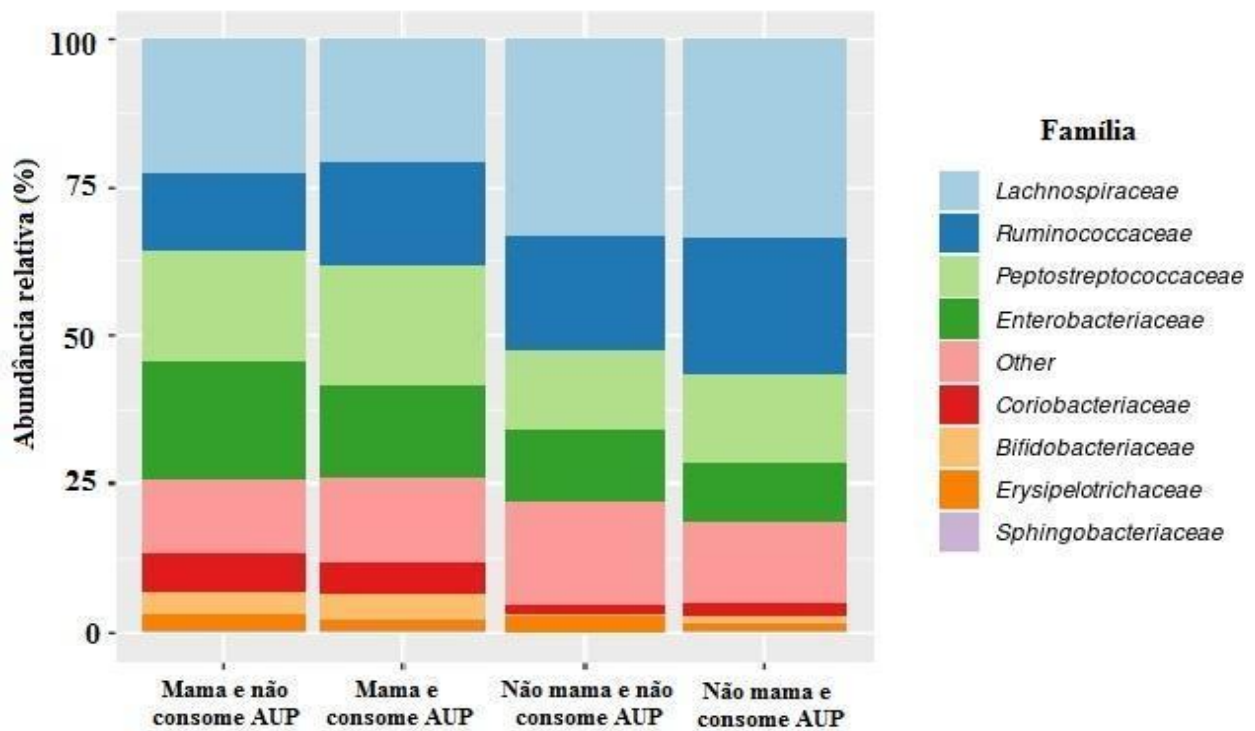


Figura 11. Abundância relativa ao nível taxonômico de Família segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

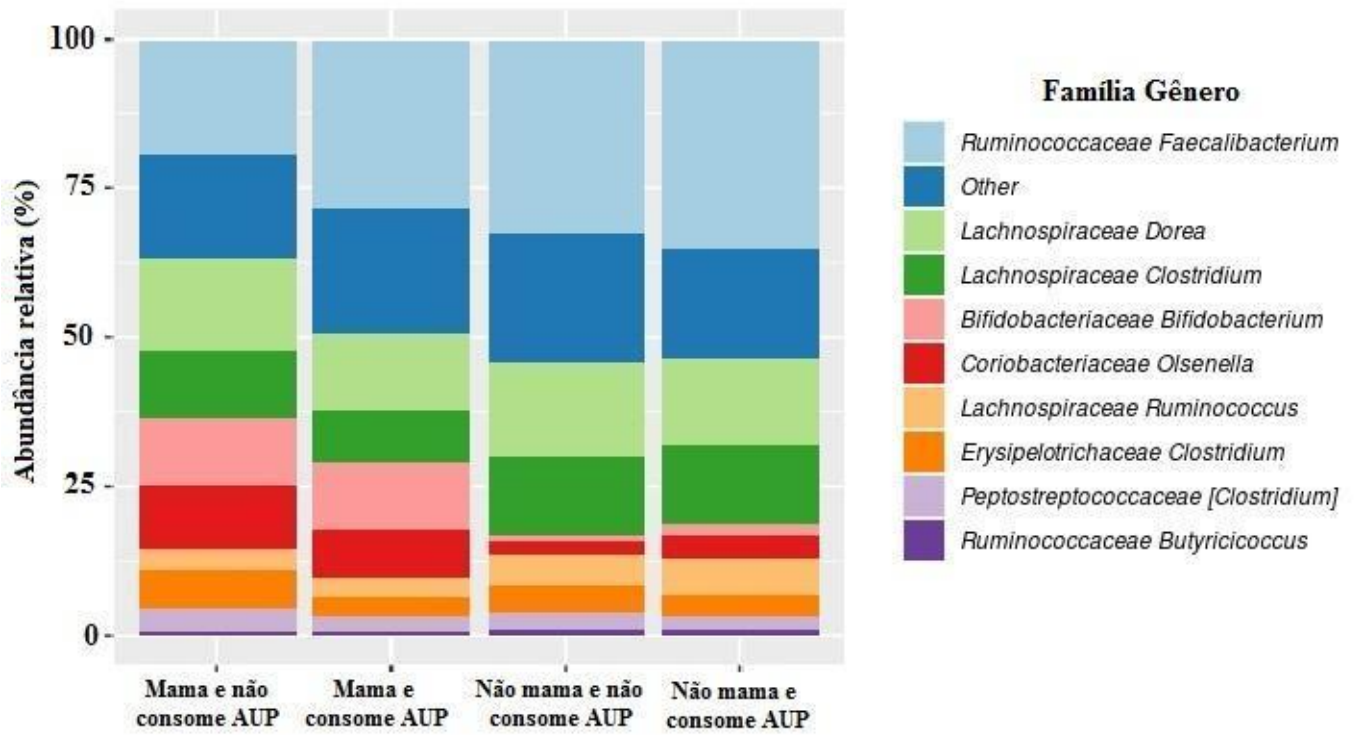


Figura 12. Abundância relativa ao nível taxonômico de Gênero segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

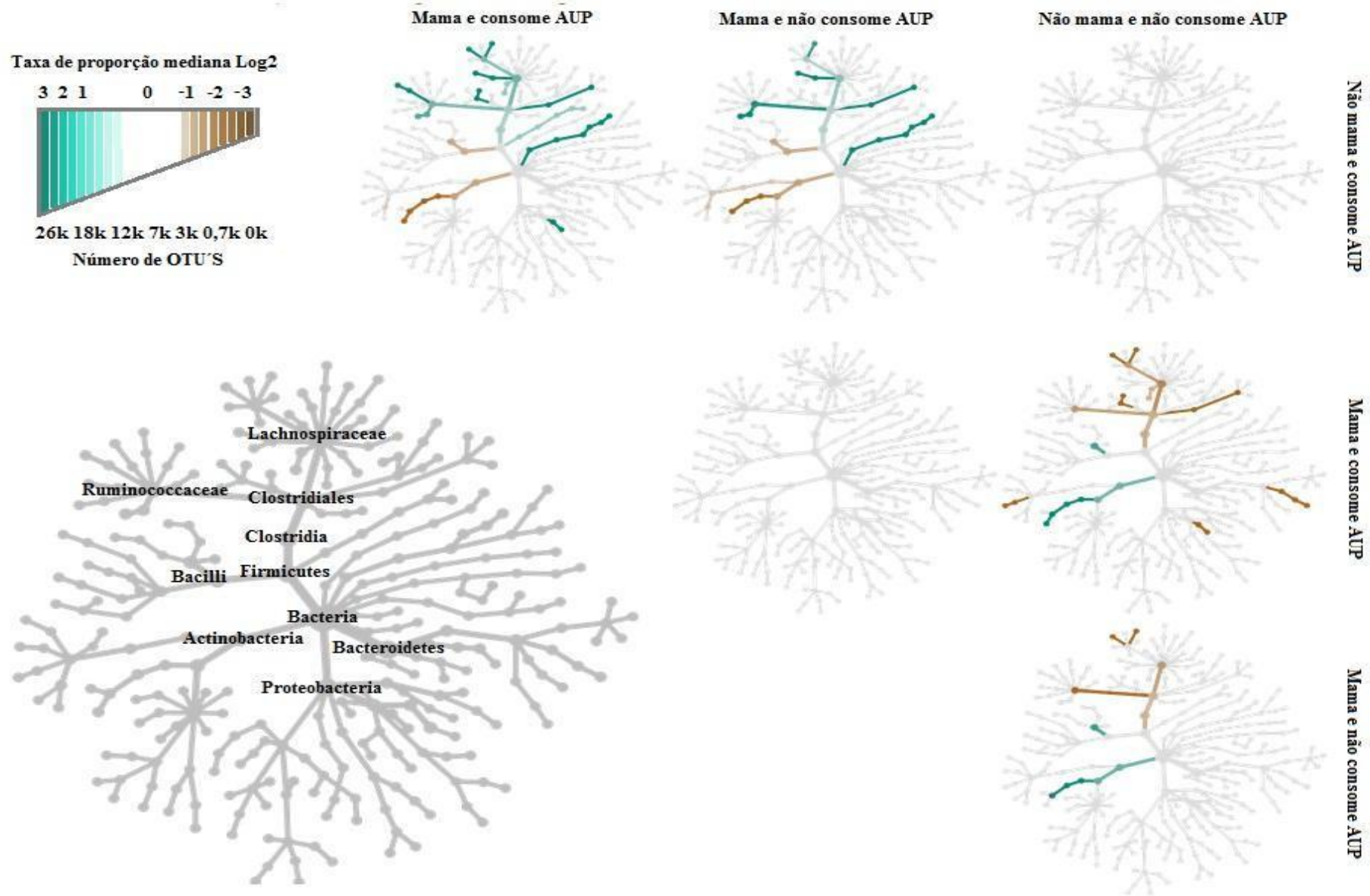


Figura 13. Árvore de calor de abundância diferencial filogenética segundo práticas alimentares da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida.

5.4.1 Filo

Segundo as médias de abundância relativas em cada grupo da variável combinada de prática de aleitamento materno e consumo de AUP (Tabela 4), em todos os grupos o filo mais abundante foi o *Bacteroidetes*, representando quase metade do total. Em seguida, o filo *Firmicutes* aparece como o mais abundante, representando, em média, algo entre um quarto e um terço do total. Outros dois filis com abundância relativa mais representativa são *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, mas que não permitem afirmar o tamanho exato de sua parcela representativa, visto que possuem mais heterogeneidade entre os grupos, muito embora não haja diferença estatística para esses (e nenhum outro filo) nessa análise de comparação global, isso é, entre todos grupos simultaneamente.

Todavia, ao ser adotada a comparação entre o grupo referência de crianças amamentadas e que não consumiam AUP com os demais grupos separadamente (Tabela 5), observou-se diferenças estatisticamente significantes, mesmo após ajuste por FDR, entre ele e os dois grupos de crianças desmamadas para o filo *Actinobacteria*, convergindo ao achado na árvore de calor. Também, os filis *Fusobacteria* e *Elusimicrobia* mostraram-se distintos entre o grupo referência e o de crianças desmamadas e que consumiam AUP, sendo *Elusimicrobia* também estatisticamente significante comparado ao grupo de crianças amamentadas e que consumiam AUP, algo que não foi apontado pela árvore de calor.

Tabela 4. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de filo segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

| Filo | Mama e não consome AUP | Mama e consome AUP | Não mama e não consome AUP | Não mama e consome AUP | p | FDR |
|------------------------|------------------------|--------------------|----------------------------|------------------------|-------|-------|
| <i>Actinobacteria</i> | 0,16 (0,16) | 0,09 (0,12) | 0,04 (0,09) | 0,04 (0,07) | 0,069 | 0,206 |
| <i>Bacteroidetes</i> | 0,44 (0,18) | 0,49 (0,19) | 0,44 (0,16) | 0,48 (0,17) | 0,007 | 0,089 |
| <i>Cyanobacteria</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,264 | 0,288 |
| <i>Elusimicrobia</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,261 | 0,288 |
| <i>Firmicutes</i> | 0,28 (0,13) | 0,27 (0,14) | 0,36 (0,17) | 0,29 (0,15) | 0,016 | 0,095 |
| <i>Fusobacteria</i> | 0,02 (0,05) | 0,00 (0,07) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,06) | 0,670 | 0,670 |
| <i>Lentisphaerae</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,261 | 0,288 |
| <i>Planctomycetes</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,261 | 0,288 |
| <i>Proteobacteria</i> | 0,10 (0,10) | 0,06 (0,09) | 0,08 (0,11) | 0,01 (0,07) | 0,111 | 0,267 |
| <i>Synergistetes</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,261 | 0,288 |
| <i>Verrucomicrobia</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,00) | 0,261 | 0,288 |

Tabela 5. Comparação da abundância ao nível taxonômico de filo entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

| Filo | Mama e consome AUP | | Não mama e não consome AUP | | Não mama e consome AUP | |
|------------------------|--------------------|--------------|----------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | p | FDR | p | FDR | p | FDR |
| <i>Actinobacteria</i> | 0,234 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| <i>Bacteroidetes</i> | 0,686 | 1 | 0,431 | 1 | 0,820 | 1 |
| <i>Cyanobacteria</i> | 0,678 | 1 | 0,736 | 1 | 0,812 | 1 |
| <i>Elusimicrobia</i> | 0,000 | 0,000 | 0,731 | 1 | 0,000 | 0,000 |
| <i>Firmicutes</i> | 0,688 | 1 | 0,171 | 1 | 0,893 | 1 |
| <i>Fusobacteria</i> | 0,679 | 1 | 0,465 | 1 | 0,004 | 0,017 |
| <i>Lentisphaerae</i> | 0,975 | 1 | 0,858 | 1 | 0,924 | 1 |
| <i>Planctomycetes</i> | 0,868 | 1 | 0,858 | 1 | 0,984 | 1 |
| <i>Proteobacteria</i> | 0,463 | 1 | 0,857 | 1 | 0,953 | 1 |
| <i>Synergistetes</i> | 0,989 | 1 | 0,858 | 1 | 0,761 | 1 |
| <i>Verrucomicrobia</i> | 0,938 | 1 | 0,421 | 1 | 0,761 | 1 |

5.4.2 Gênero

Para gênero, na comparação global foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, ajustadas por FDR, nas abundâncias de *Bifidobacterium*, *Olsenella*, *Paraeggerthella*, *Dorea*, *Moryella*, *Roseburia*, *Ruminococcus*, *Clostridiaceae_Clostridium*, *Lachnospiraceae_Clostridium*, *Peptostreptococcacea_Clostridium* e *Selenomonas* (Tabela 6). Já na comparação específica (Tabela 7), nenhuma distinção foi encontrada entre o grupo referência e o de crianças amamentadas que consumiam AUP, corroborando com a árvore de calor; em relação ao grupo de crianças desmamadas que não consumiam AUP, foi encontrada dissimilaridade na abundância de *Bifidobacterium*, *Paraeggerthella* e *Moryella*; já quanto ao grupo totalmente antagônico, de crianças desmamadas e que consumiam AUP, as diferenças encontradas foram de *Bifidobacterium* e *Ruminococcus*. Novamente, quanto ao *Bifidobacterium*, as análises são concordantes com a árvore de calor.

Tabela 6. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de gênero segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

| Gênero | Mama e não consome AUP | Mama e consome AUP | Não mama e não consome AUP | Não mama e consome AUP | p | FDR |
|--|------------------------|--------------------|----------------------------|------------------------|-------|--------------|
| <i>Bifidobacterium</i> | 0,12 (0,19) | 0,11 (0,19) | 0,01 (0,03) | 0,02 (0,05) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Eggerthella</i> | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,01) | 0,01 (0,02) | 0,255 | 1 |
| <i>Olsenella</i> | 0,11 (0,17) | 0,08 (0,13) | 0,02 (0,03) | 0,04 (0,08) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Paraeggerthella</i> | 0,01 (0,04) | 0,01 (0,04) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Cytophaga</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,02) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,200 | 1 |
| <i>Alistipes</i> | 0,01 (0,02) | 0,00 (0,02) | 0,01 (0,04) | 0,01 (0,04) | 0,249 | 1 |
| <i>Streptococcus</i> | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,02) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,02) | 0,361 | 1 |
| <i>Clostridiaceae_ Clostridium</i> | 0,03 (0,12) | 0,02 (0,09) | 0,06 (0,12) | 0,03 (0,09) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Lachnospiraceae_ Clostridium</i> | 0,11 (0,12) | 0,09 (0,11) | 0,13 (0,14) | 0,13 (0,14) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Dorea</i> | 0,15 (0,18) | 0,13 (0,19) | 0,16 (0,20) | 0,14 (0,19) | 0,000 | 0,007 |
| <i>Moryella</i> | 0,01 (0,04) | 0,03 (0,10) | 0,02 (0,11) | 0,01 (0,06) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Roseburia</i> | 0,01 (0,02) | 0,00 (0,02) | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,05) | 0,001 | 0,017 |
| <i>Ruminococcus</i> | 0,03 (0,08) | 0,03 (0,08) | 0,05 (0,11) | 0,07 (0,13) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Peptostreptococcaceae [Clostridium]</i> | 0,04 (0,09) | 0,02 (0,06) | 0,03 (0,06) | 0,02 (0,04) | 0,601 | 1 |
| <i>Peptostreptococcaceae_ Clostridium</i> | 0,02 (0,03) | 0,01 (0,03) | 0,02 (0,04) | 0,02 (0,04) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Butyricoccus</i> | 0,01 (0,01) | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,02) | 0,006 | 0,084 |
| <i>Faecalibacterium</i> | 0,20 (0,27) | 0,29 (0,31) | 0,33 (0,30) | 0,35 (0,31) | 0,012 | 0,175 |
| <i>Anaerosinus</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,077 | 0,870 |
| <i>Selenomonas</i> | 0,00 (0,02) | 0,01 (0,05) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,03) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Erysipelotrichaceae_ Clostridium</i> | 0,07 (0,14) | 0,03 (0,06) | 0,04 (0,07) | 0,03 (0,05) | 0,017 | 0,224 |
| <i>Campylobacter</i> | 0,03 (0,10) | 0,05 (0,15) | 0,05 (0,16) | 0,03 (0,09) | 0,977 | 1 |
| <i>Helicobacter</i> | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,01) | 0,01 (0,03) | 0,00 (0,02) | 0,196 | 1 |

Tabela 7. Comparação da abundância ao nível taxonômico de gênero entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

| Gênero | Mama e consome AUP | | Não mama e não consome AUP | | Não mama e consome AUP | |
|---|--------------------|-----|----------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | p | FDR | p | FDR | p | FDR |
| <i>Bifidobacterium</i> | 0,643 | 1 | 0,000 | 0,001 | 0,000 | 0,000 |
| <i>Eggerthella</i> | 0,226 | 1 | 0,606 | 1 | 0,274 | 1 |
| <i>Olsenella</i> | 0,281 | 1 | 0,004 | 0,098 | 0,004 | 0,095 |
| <i>Paraeggerthella</i> | 0,989 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,366 | 1 |
| <i>Cytophaga</i> | 0,998 | 1 | 0,567 | 1 | 0,283 | 1 |
| <i>Alistipes</i> | 0,595 | 1 | 0,977 | 1 | 0,129 | 1 |
| <i>Streptococcus</i> | 0,930 | 1 | 0,732 | 1 | 0,778 | 1 |
| <i>Clostridiaceae_</i> <i>Clostridium</i> | 0,916 | 1 | 0,125 | 1 | 0,016 | 0,339 |
| <i>Lachnospiraceae_</i> <i>Clostridium</i> | 0,268 | 1 | 0,017 | 0,390 | 0,005 | 0,111 |
| <i>Dorea</i> | 0,269 | 1 | 0,292 | 1 | 0,482 | 1 |
| <i>Moryella</i> | 0,728 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,669 | 1 |
| <i>Roseburia</i> | 0,893 | 1 | 0,588 | 1 | 0,018 | 0,351 |
| <i>Ruminococcus</i> | 0,789 | 1 | 0,124 | 1 | 0,000 | 0,001 |
| <i>Peptostreptococcaceae_</i> <i>[Clostridium]</i> | 0,278 | 1 | 0,667 | 1 | 0,496 | 1 |
| <i>Peptostreptococcaceae_</i> <i>Clostridium</i> | 0,100 | 1 | 0,317 | 1 | 0,098 | 1 |
| <i>Butyricoccus</i> | 0,574 | 1 | 0,501 | 1 | 0,025 | 0,484 |
| <i>Faecalibacterium</i> | 0,887 | 1 | 0,909 | 1 | 0,289 | 1 |
| <i>Anaerosinus</i> | 0,053 | 1 | 0,069 | 1 | 0,003 | 0,064 |
| <i>Selenomonas</i> | 0,767 | 1 | 0,304 | 1 | 0,770 | 1 |
| <i>Erysipelotrichaceae_</i> <i>Clostridium</i> | 0,900 | 1 | 0,756 | 1 | 0,376 | 1 |
| <i>Campylobacter</i> | 0,673 | 1 | 0,232 | 1 | 0,699 | 1 |
| <i>Helicobacter</i> | 0,103 | 1 | 0,239 | 1 | 0,486 | 1 |

5.4.3 Família

Por fim, na comparação global ao nível taxonômico de família encontrou-se dissimilaridades na abundância de *Micrococcaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Coriobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Veillonellaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Comamonadaceae* (Tabela 8). Assim como em gênero, nenhuma distinção foi encontrada entre o grupo referência e o de crianças amamentadas que consumiam AUP, corroborando com a árvore de calor. Na comparação do grupo referência com crianças desmamadas que não consumiam AUP, houve distinção para *Micrococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* e *Bacillaceae*; enquanto em comparação com crianças desmamadas que consumiam AUP, a diferença foi observada em *Bifidobacteriaceae*, *Coriobacteriaceae* e *Ruminococcaceae* (Tabela 9).

Tabela 8. Média de abundância relativa ao nível taxonômico de família segundo variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP ao primeiro ano de vida, ajustada por FDR.

| Família | Mama e não consome AUP | Mama e consome AUP | Não mama e não consome AUP | Não mama e consome AUP | P | FDR |
|------------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------------|------------------------------|-------|--------------|
| <i>Micrococcaceae</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Bifidobacteriaceae</i> | 0,04 (0,08) | 0,05 (0,09) | 0,00 (0,01) | 0,01 (0,03) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Coriobacteriaceae</i> | 0,06 (0,11) | 0,06 (0,09) | 0,02 (0,03) | 0,03 (0,04) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Sphingobacteriaceae</i> | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,02) | 0,119 | 1 |
| <i>Bacillaceae</i> | 0,01 (0,03) | 0,00 (0,02) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Streptococcaceae</i> | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,140 | 1 |
| <i>Clostridiaceae</i> | 0,02 (0,10) | 0,01 (0,07) | 0,03 (0,08) | 0,02 (0,05) | 0,000 | 0,007 |
| <i>Lachnospiraceae</i> | 0,23 (0,20) | 0,21 (0,19) | 0,33 (0,21) | 0,33 (0,18) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Peptostreptococcaceae</i> | 0,19 (0,28) | 0,20 (0,25) | 0,14 (0,15) | 0,15 (0,19) | 0,329 | 1 |
| <i>Ruminococcaceae</i> | 0,13 (0,18) | 0,18 (0,21) | 0,19 (0,17) | 0,23 (0,21) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Veillonellaceae</i> | 0,00 (0,01) | 0,01 (0,03) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,03) | 0,000 | 0,000 |
| <i>Erysipelotrichaceae</i> | 0,03 (0,05) | 0,01 (0,04) | 0,02 (0,05) | 0,01 (0,02) | 0,111 | 1 |
| <i>Fusobacteriaceae</i> | 0,05 (0,16) | 0,04 (0,13) | 0,08 (0,20) | 0,07 (0,13) | 0,002 | 0,022 |
| <i>Comamonadaceae</i> | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,01) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,01) | 0,000 | 0,002 |
| <i>Campylobacteraceae</i> | 0,01 (0,07) | 0,02 (0,08) | 0,02 (0,07) | 0,01 (0,03) | 0,437 | 1 |
| <i>Helicobacteraceae</i> | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,00) | 0,00 (0,02) | 0,00 (0,01) | 0,645 | 1 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 0,20 (0,23) | 0,16 (0,21) | 0,12 (0,14) | 0,10 (0,12) | 0,124 | 1 |
| <i>Pasteurellaceae</i> | 0,01 (0,01) | 0,01 (0,05) | 0,01 (0,02) | 0,01 (0,05) | 0,014 | 0,143 |

Tabela 9. Comparação da abundância ao nível taxonômico de família entre o grupo referência “Mama e não consome AUP” com os demais grupos da variável combinada entre aleitamento materno e consumo de AUP, ajustada por FDR.

| Família | Mama e consome AUP | | Não mama e não consome AUP | | Não mama e consome AUP | |
|------------------------------|--------------------|-----|----------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | p | FDR | p | FDR | p | FDR |
| <i>Micrococcaceae</i> | 0,665 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,006 | 0,106 |
| <i>Bifidobacteriaceae</i> | 0,570 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| <i>Coriobacteriaceae</i> | 0,156 | 1 | 0,009 | 0,146 | 0,001 | 0,011 |
| <i>Marinilabiaceae</i> | 0,821 | 1 | 0,723 | 1 | 0,662 | 1 |
| <i>Rikenellaceae</i> | 0,489 | 1 | 0,930 | 1 | 0,303 | 1 |
| <i>Sphingobacteriaceae</i> | 0,514 | 1 | 0,056 | 0,782 | 0,548 | 1 |
| <i>Bacillaceae</i> | 0,969 | 1 | 0,000 | 0,000 | 0,097 | 1 |
| <i>Streptococcaceae</i> | 0,761 | 1 | 0,623 | 1 | 0,437 | 1 |
| <i>Clostridiaceae</i> | 0,983 | 1 | 0,158 | 1 | 0,050 | 0,653 |
| <i>Lachnospiraceae</i> | 0,731 | 1 | 0,005 | 0,093 | 0,008 | 0,123 |
| <i>Peptostreptococcaceae</i> | 0,727 | 1 | 0,170 | 1 | 0,500 | 1 |
| <i>Ruminococcaceae</i> | 0,212 | 1 | 0,004 | 0,078 | 0,002 | 0,035 |
| <i>Veillonellaceae</i> | 0,061 | 1 | 0,359 | 1 | 0,700 | 1 |
| <i>Erysipelotrichaceae</i> | 0,080 | 1 | 0,934 | 1 | 0,378 | 1 |
| <i>Fusobacteriaceae</i> | 0,574 | 1 | 0,708 | 1 | 0,012 | 0,176 |
| <i>Comamonadaceae</i> | 0,723 | 1 | 0,063 | 0,815 | 0,081 | 0,976 |
| <i>Campylobacteraceae</i> | 0,156 | 1 | 0,726 | 1 | 0,712 | 1 |
| <i>Helicobacteraceae</i> | 0,445 | 1 | 0,638 | 1 | 0,974 | 1 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 0,097 | 1 | 0,519 | 1 | 0,035 | 0,485 |
| <i>Pasteurellaceae</i> | 0,343 | 1 | 0,258 | 1 | 0,539 | 1 |

6 DISCUSSÃO

6.1 Consumo de AUP

No Brasil, segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2017-2018, em média, 19,7% das calorias consumidas por dia são oriundas do consumo de AUP's, sendo a porcentagem inversamente proporcional às faixas etárias analisadas, onde 60 anos ou mais tiveram 15,7%; 19 a 59 anos tiveram 19,5% e 10 a 18 anos tiveram 26,7% (IBGE, 2019). Ainda, em comparação à POF de 2008-2009, houve um aumento de 5,5% no consumo de AUP no Brasil, com expressivo aumento entre os indivíduos do quintil de menor renda (+3,54 pontos percentuais) e que vivem na região Norte (+2,95 pontos percentuais), indicando uma trajetória de aumento de consumo da população brasileira para um patamar ainda maior (DA COSTA LOUZADA et al., 2023), principalmente na população deste estudo. Infelizmente, o censo não avaliou as faixas etárias mais jovens nesse aspecto. Todavia, o Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI), de 2019, que avaliou a alimentação e estado nutricional de 14558 crianças brasileiras, oriundas de 123 municípios com representação de todos estados do país, constatou que 80% das crianças até 5 anos consumiam AUP. Ainda, na região Norte, os dados são ainda mais alarmantes, visto que 84,5% das crianças de até 2 anos e 66,3% das crianças entre 6 a 11 meses consumiam AUP (UFRJ, 2021).

Se as médias nacionais e regionais já são preocupantes, em nossa população de estudo isso se torna ainda mais grave: identificamos que 636 crianças das 728 que compõem nossa casuística, aos 12 meses de vida, consumiam algum tipo de AUP diariamente, representando 87,4% da amostra. Dessas, 337 crianças consumiam AUP somente uma vez ao dia (46,3% do total), enquanto 299 crianças consumiam duas ou mais vezes ao dia (41,1% do total). Felizmente, ao considerar a prática de aleitamento materno, 448 crianças embora consumissem AUP ainda mamavam (61,5% do total), enquanto 188 crianças consumiam AUP e já estavam desmamadas (25,8% do total). Ainda, acerca dos tipos de AUP consumidos, 449 crianças das crianças deste estudo consumiam bebidas açucaradas (61,8%), sendo 272 uma vez ao dia (37,4%) e 177 duas ou mais vezes ao dia (24,4%); 516 crianças consumiam guloseimas (71,0%), sendo 286 uma vez ao dia (39,4%) e 230 duas ou mais vezes ao dia (31,6%); 203 crianças consumiam, em qualquer frequência diária, embutidos, salgadinhos e/ou macarrão instantâneo (27,9%).

Entre as características dos AUP que os tornam potencialmente prejudiciais para a microbiota intestinal estão os aditivos alimentares, sendo alguns deles os adoçantes artificiais (SUEZ et al., 2014; SUEZ et al., 2015; FRANKENFELD et al. 2015; SUEZ et al., 2022), emulsificantes (ROBERTS et al., 2010; CHASSAING et al., 2015; GERASIMIDIS et al., 2020; NAIMI et al., 2021; ROUSTA et al., 2021), conservantes (HRNCIROVA et al., 2019; TIROSH et al., 2019; GERASIMIDIS et al., 2020) e corantes (BRUN et al., 2014; ACHTSCHIN & SIPAHI, 2017; MAO et al., 2019; PINGET et al., 2019). Ainda, a microbiota intestinal pode ser afetada pelo consumo excessivo de sal (BIER et al., 2018; FERGUSON et al., 2019), açúcar (DI RIENZI & BRITTON, 2020; YAN et al., 2023) e gordura - geralmente saturada e/ou hidrogenada (DANIEL et al., 2014; WAN et al., 2019; MALESZA et al., 2021).

Tendo em vista os vários aspectos elencados acima, um dos maiores problema do consumo de AUP para a microbiota intestinal (e saúde em geral) é que, muito dificilmente, um AUP conterá somente um dos aditivos alimentares ou características nutricionais não saudáveis – o que já seria relevante. Em geral, os AUP contam com múltiplos desses itens, o que torna seus efeitos potentes e rápidos, como foi evidenciado em um estudo com ratos, colonizados com microbiota humana de adultos saudáveis em ambiente gnotobiótico, em que a mudança de uma dieta vegetais e com baixo teor de gordura para uma dieta “ocidental” com alto teor de gordura e açúcar mudou a estrutura da microbiota, a representação das vias metabólicas no microbioma e alterou a expressão gênica do microbioma em apenas um dia (TURNBAUGH et al., 2009). Em seres humanos, um estudo ofertou uma dieta ocidental à adultos africanos rurais, que habitualmente tem padrão alimentar baseado em alimentos vegetais *in natura*, com dieta rica em fibras, e identificou, em um período de 2 semanas, mudanças significativas nos mesmos parâmetros do estudo anterior, aumentando ainda os indicadores inflamatórios nos indivíduos que consumiram AUP (O’KEEFE et al., 2015). Considerando que mesmo em uma microbiota intestinal menos plástica - isso é, com menor capacidade de haver alteração em sua composição, como a de um adulto - o consumo de AUP foi capaz de mudanças tão radicais, acredita-se que seu impacto tenha magnitude ainda maior quando praticado em faixas etárias precoces.

6.2 Achados deste estudo frente à literatura científica

Nossos achados corroboram com a literatura científica quanto a uma maior abundância do filo *Actinobacteria*, do gênero *Bifidobacterium* e da família *Bifidobacteriaceae*, pertencentes ao mesmo ramo filogenético, em bebês amamentados em relação aos já desmamados (LAURSEN et al., 2016; GÓMEZ-MARTIN et al., 2022; BRUCE et al., 2023). Todavia, diverge do encontrado por Gómez-Martin et al. (2022) sobre o consumo de guloseimas diminuir a abundância de *Bifidobacterium* em lactentes e do achado de Khine et al. (2020) que associou positivamente o consumo de AUP à abundância de *Bifidobacterium*.

As bifidobactérias são cepas derivadas do filo *Actinobacteria* e do gênero *Bifidobacterium* e, até onde se sabe, são as bactérias com maior capacidade de consumir glicanos não digeríveis como substrato energético, inclusive de forma cooperativa entre as cepas (MILANI et al., 2015; LAWSON et al., 2020; WALSH et al., 2022). Considerando que o leite materno é rico em mucinas e oligossacarídeos (MOOSSAVI et al., 2018; ZHANG et al., 2021), isso explicaria sua dominância em amamentados e escassez em desmamados. Embora não haja total clareza quanto aos seus mecanismos, *Bifidobacterium* vem sendo associado à regulação imunológica inata e adaptativa com proteção para doenças autoimunes, ação anti-inflamatória e manutenção da homeostase intestinal (ALESSANDRI et al., 2019; SUN et al., 2020; HENRICK et al., 2021).

O gênero *Ruminococcus* se mostrou significativamente distinto entre os grupos mama e não consome AUP versus não mama e consome AUP, com maior abundância para o último. Nosso achado difere do encontrado por Matsuyama et al. (2019), que encontrou associação positiva entre *Ruminococcus* e leite materno e negativa com AUP, e de Khine et al. (2020) com associação positiva com alimentos *in natura* e carboidratos complexos (como leite materno); todavia converge ao achado no estudo de De Filippo et al. (2017), onde crianças que consumiam dieta sem AUP tiveram menores abundâncias do gênero *Ruminococcus* e da família *Ruminococcaceae* que crianças que consumiam AUP, e de Laursen et al. (2016), onde o aleitamento materno foi inversamente associado à abundância dos mesmos. Karvonen et al. (2019) não relacionaram *Ruminococcus* com algum fator dietético, todavia encontraram associação negativa entre ele e crianças com sobrepeso/obesidade, algo também encontrado em um estudo com adultos (SCHWIERTZ et al., 2010), mas contrariado por outro (KASAI et al., 2015). O estudo de *Ruminococcus* é robusto na área veterinária, principalmente em ruminantes,

mas ainda é de certa forma obscuro em humanos quanto aos seus fatores associados, funções e repercussões, como pode ser identificado nessa ausência de consenso.

Foi encontrada diferença significativa entre os grupos extremos de práticas alimentares (mama e não consome AUP *versus* não mama e consome AUP) na abundância dos filos *Elusimicrobia* e *Fusobacteria* e da família *Coriobacteriaceae*. Porém, nenhum dos estudos identificados fez qualquer menção a eles e não foram identificados artigos descritivos quanto às suas funções na microbiota intestinal humana, não havendo capacidade comparativa ou hipotética para esse resultado.

Quanto à alfa diversidade, neste estudo, encontramos que o consumo de embutidos, salgadinhos e macarrão instantâneo ao menos uma vez ao dia ou de qualquer tipo de AUP duas ou mais vezes ao dia foi positivamente associado aos parâmetros de alfa diversidade, sendo Número de OTU's e índices de Shannon e Simpson para o primeiro e os três parâmetros mais o índice de Chao1 para o segundo (todos parâmetros de alfa diversidade analisados). Esses achados indicam que o consumo de AUP, segundo essas condições de tipo e/ou frequência, impactou a composição da microbiota intestinal ao propiciar a ocorrência de uma quantidade maior de bactérias distintas. O consumo de AUP também se associou positivamente à alfa diversidade nos estudos de De Filippo et al. (2017) e Leong et al. (2018), mas a maior convergência aos nossos achados ocorre com o estudo de Laursen et al. (2016), que identificou aumento na alfa diversidade em crianças que consumiam um tipo de AUP (queijos), mas não para outros tipos (fast foods, doces e bebidas açucaradas – sendo esses dois últimos também não associados em nossos achados). Todavia, o estudo de De Filippo et al. (2010) diferiu desses resultados, uma vez que uma maior diversidade alfa foi encontrada em crianças em dieta baseada em *in natura*, enquanto as que consumiam AUP tiveram uma microbiota menos diversa.

No presente estudo, ao analisar a alfa diversidade segundo a variável combinada de práticas alimentares, considerando o grupo de crianças que ainda mamavam e não consumiam AUP como grupo referência, foi encontrada associação positiva com o grupo de crianças desmamadas que consumiam AUP, que analisadas em conjunto com o resultado anterior, indicam que o consumo de AUP pode gerar um ambiente favorável para alguns táxons pela oferta de substratos (possivelmente sintéticos) não existentes ou pouco abundantes em alimentos *in natura* e/ou por uma pressão seletiva que esses mesmos componentes podem gerar em bactérias não resistentes, impactando fortemente na modulação da microbiota intestinal.

Também, no presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo referência e o grupo de crianças que ainda mamavam e consumiam AUP. Esse resultado

indica que o aleitamento materno aumentou a resiliência ecológica da microbiota intestinal, possivelmente por ação das bifidobactérias, agindo como um protetor à maturidade precoce induzida por AUP. De modo similar, um estudo brasileiro com amostra de conveniência no Hospital Universitário da USP, encontrou essa mesma ação do leite materno ao analisar a microbiota intestinal de recém-nascidos (n=11) de parto normal, com amostras colhidas no 2º e 7º dia de vida e todos demais meses até o primeiro ano de vida, onde crianças em aleitamento materno exclusivo ou predominante possuíam um padrão de similaridade ao longo do tempo, sendo que a microbiota intestinal aos 12 meses, apesar do consumo de alimentos sólidos e/ou uso de antibióticos, continuou estável - embora essa característica não foi observada entre crianças que tiveram alimentação mista e introdução de alimentos sólidos antes do 5º mês de vida (CARVALHO-RAMOS et al., 2018).

Quanto à beta diversidade, o presente estudo identificou dissimilaridade estatisticamente significativa em todos os parâmetros de beta diversidade (Bray-Curtis, Jaccard, UniFrac ponderado e não ponderado) na comparação entre os pares “Mama e não consome AUP” *versus* “Não mama e consome AUP”; “Mama e consome AUP” *versus* “Não mama e não consome AUP”; e “Mama e consome AUP” *versus* “Não mama e consome AUP”. As duas primeiras comparações corroboram com a hipótese de que a dieta modulou a composição da microbiota intestinal, todavia, pelos grupos dessas comparações serem entre práticas alimentares antagônicas, só por meio desse resultado não é possível inferir qual dos componentes da variável combinada (se aleitamento materno ou se consumo de AUP), ou se a combinação de fato entre os dois, tem maior impacto para essa distinção. Porém, a comparação “Mama e consome AUP” *versus* “Não mama e consome AUP”, por possuir como prática em comum o consumo de AUP e a prática de aleitamento materno como alternante, permite especular que o aleitamento materno é o fator da variável combinada que possui maior ação moduladora na composição da microbiota intestinal, já que se associou à todos parâmetros da beta diversidade enquanto as comparações entre os grupos que praticavam aleitamento materno, sendo o consumo de AUP o fator variável, a dissimilaridade foi estatisticamente significativa apenas pelos índices de Bray-Curtis e Jaccard, e entre os grupos de crianças desmamadas, com consumo de AUP como fator variável, só houve diferença estatisticamente significativa para Bray-Curtis. Um agravante é que apenas em comparações entre grupos contrastantes quanto à prática de aleitamento materno houve associação com as métricas de UniFrac, único parâmetro capaz de determinar a distância filogenética entre as amostras, indicando uma importante diferenciação do perfil bacteriano da microbiota intestinal entre crianças amamentadas e desmamadas. Isso indica que o aleitamento materno (ou a ausência dele) possuiu um impacto

potencialmente superior à prática de consumo de AUP na seleção filogenética da microbiota intestinal nessa população.

A análise da árvore de calor de abundância diferencial filogenética proposta no presente estudo corrobora com os achados supracitados, uma vez que as árvores geradas pela comparação entre os grupos com mesma prática de aleitamento materno, sendo o consumo de AUP como variável, não sofrem nenhuma incidência de calor, ou seja, não possuem diferenciação filogenética qualitativa (UniFrac não ponderada) e quantitativamente (UniFrac ponderada), muito embora possuam diferenças na diversidade e abundância em ramos filogenéticos iguais (Jaccard e Bray-Curtis).

6.3 Enfrentamento aos AUP

A composição dos AUP fornece substratos às bactérias que são associadas, direta ou indiretamente, a doenças, possuindo um papel modulador potencialmente patogênico, sendo a relação microbiota intestinal e consumo de AUP uma hipótese para a transição epidemiológica (SONNENBURG & SONNENBURG, 2019; CHANG et al., 2021; JIAN et al., 2021; JUUL et al., 2021; SROUR et al. 2022). De forma agravante, um estudo publicado na *The Lancet*, conduzido com dados coletados entre 1990 e 2017 oriundos de 195 países, estimou que, em 2017, cerca de 11 milhões de mortes e 255 milhões de DALY's (anos de vida perdidos ajustados por incapacidade) foram atribuíveis a fatores de risco dietéticos, sendo a alta ingestão de sódio (3 milhões mortes e 70 milhões de DALYs), baixa ingestão de grãos integrais (3 milhões mortes e 82 milhões de DALYs) e a baixa ingestão de frutas (2 milhões de mortes e 65 milhões de DALYs) os principais fatores de risco (AFSHIN et al., 2019), todas características de um padrão de dieta ocidental baseada em AUP.

No Brasil, estima-se que ocorram 57 mil mortes prematuras por ano (entre indivíduos de 30 a 69 anos) em decorrência do consumo de AUP, com base nos dados nacionais de 2019. Esse número representa 10,5% de todas as mortes ocorridas no país nesse mesmo ano, superando qualquer outra causa de morte registrada, como homicídios (45,5 mil – 8,41%), acidentes de trânsito (30 mil – 5,54%), câncer de mama (18 mil – 3,33%) e câncer de próstata (15 mil – 2,77%). Ainda, a redução do consumo de AUP de modo a diminuir diretamente a ingestão calórica total em 10% poderia evitar cerca de 5,9 mil mortes; em 20% cerca de 12,1 mil mortes e em 50% cerca de 29,3 mil mortes. Todavia, a tendência de consumo de AUP no

Brasil é para seu aumento e não sua redução, sendo que se atingidos os valores de participação calórica de AUP na dieta como no México (29,8%) ou nos Estados Unidos (57%), teríamos aproximadamente 113 mil ou 194 mil mortes prematuras causadas por consumo de AUP, respectivamente (NILSON et al., 2023).

Assim, há necessidade de políticas públicas efetivas para o enfrentamento ao consumo de AUP, que é um desafio complexo que requer ações integradas e multissetoriais, envolvendo o governo, indústria de alimentos, sociedade civil e consumidores, visando promover mudanças no ambiente alimentar, na disponibilidade, acessibilidade e promoção de alimentos saudáveis, bem como na educação e conscientização dos consumidores sobre escolhas alimentares saudáveis. Entre as medidas para o estímulo ao consumo de “comida de verdade”, pode-se destacar o incentivo à produção e consumo de alimentos *in natura* e minimamente processados, por meio de subsídios à agricultura familiar, feiras livres, bancos de alimentos e barateamento da produção e distribuição de alimentos orgânicos, principalmente em regiões menos abastadas; apoio a iniciativas comunitárias de promoção da alimentação saudável, como permissão de uso de áreas públicas ociosas para construção de hortas comunitárias e plantio de árvores frutíferas; programas de educação alimentar e nutricional, com ações em escolas públicas e privadas, praças públicas, mercados, espaços em canais de TV de sinal aberto e nas mídias sociais; ampliação dos restaurantes populares à população geral, como exemplo o Programa Bom Prato do estado de São Paulo para todo Brasil, com possível isenção para grupos vulneráveis como pessoas em situação de rua, idosos acima de 80 anos, crianças menores que 5 anos e gestantes.

Ainda, quanto à redução do consumo de AUP, a regulamentação e restrição da publicidade desses produtos em canais de comunicação, fontes de entretenimento infantil, campanhas de marketing *in loco*, disponibilização de brindes e embalagens informativas sem *labels* e/ou personagens apelativos, bem como a taxação de AUP's, que são medidas adotadas em países latinos recentemente com resultado positivo (CHILE, 2017; NG et al., 2019).

Apesar das inúmeras formas de melhoria possíveis, o Brasil já conta com recomendações, legislações e políticas públicas importantes. Em 2022, um novo padrão de rotulagem frontal entrou em vigor no país, conhecido como “Olho na lupa” por conter um painel situado na parte da frente das embalagens com o desenho de uma lupa, seguido da informação “ALTO EM (sódio/gordura saturada/açúcar adicionado)”, que embora não fosse o modelo de rotulagem com maior evidência científica de sucesso pela sua única e recente utilização até então ser o Canadá, sendo que o “de sinais de trânsito” já fora adotado com sucesso no Chile e outros países sul-americanos de forma similar (SÁNCHEZ & SILVA, 2018), representa certo avanço em relação ao padrão anterior.

Uma política pública fundamental, pensando em efeitos imediatos e nas próximas gerações, é o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE). O PNAE é uma política que visa a Segurança Alimentar e Nutricional dos mais de 41 milhões de alunos de escolas públicas no período que estão na escola, por meio da oferta de refeições de qualidade e educação alimentar e nutricional. Nele, ao menos 30% dos recursos devem ser utilizados na aquisição de alimentos produzidos por agricultores familiares locais, gerando também a redistribuição de renda para pequenos produtores, fazendo a manutenção da cultura alimentar regional e retroalimentando o ciclo de promoção do Direito à Alimentação Adequada e Saudável, além de regras de limitação à compra e consumo de AUP, coibindo a oferta recorrente desses produtos (BRASIL, 2009).

Finalmente, o Brasil inovou com a definição da classificação NOVA de alimentos, alertando sobre os riscos do processamento de alimentos na saúde individual e coletiva. A NOVA embasou técnica e cientificamente a formulação do Guia Alimentar para a População Brasileira que, até sua publicação em 2014, foi desenvolvido por meio de construção coletiva, em oficinas, discussões online com atores sociais e consulta pública da minuta, que recebeu mais de 3 mil contribuições de mais de 400 indivíduos e instituições públicas, privadas e do terceiro setor, incluindo a academia e o setor produtivo (BRASIL, 2014). O Guia Alimentar é dos maiores marcos da história das ciências e políticas públicas em alimentação e nutrição, atuando quase como um manifesto de defesa da comida regional e caseira, com aplicações multisetoriais, com linguagem e conteúdo acessível e que transpassa as fronteiras nacionais, embasando Guias e recomendações de países ao redor do mundo.

Inclusive, o Guia Alimentar para a População Brasileira baseou o recentemente publicado Guia Alimentar para Crianças Brasileiras menores de 2 anos (BRASIL, 2021). Analogamente, se o primeiro é um manifesto para a comida “de verdade”, o segundo, que também dissemina com vigor essa mensagem, é em defesa da amamentação. Espera-se que esse documento venha a ter o mesmo impacto que seu norteador, com sua repercussão influenciando, unindo e fortalecendo cidadãos, profissionais, instituições, políticas e governos no enfrentamento ao consumo de AUP.

7 CONCLUSÃO

O consumo de embutidos, salgadinhos e macarrão instantâneo ao menos uma vez ao dia ou de qualquer tipo de AUP duas ou mais vezes ao dia foi positivamente associado aos parâmetros de alfa diversidade. O grupo de crianças desmamadas que consumiam AUP associou-se positivamente aos parâmetros de alfa diversidade, em relação ao grupo de crianças amamentadas que não consumiam AUP, indicando uma maior quantidade de bactérias distintas em crianças que consumiram AUP.

A prática de consumo de AUP não se associou à diferenciação filogenética qualitativa ou quantitativamente, sendo a filogenia distinta apenas entre grupos de práticas de aleitamento materno contrastantes, segundo análises de beta diversidade e árvore de calor de abundância diferencial filogenética. Apesar disso, a prática de consumo de AUP induziu diferenças na diversidade e abundância dentro dos mesmos ramos filogenéticos.

Por fim, embora o consumo de AUP tenha impactado a diversidade e abundância da microbiota intestinal ao primeiro ano de vida em nossa população de estudo, o consumo de leite materno conseguiu, ao menos segundo a frequência de consumo de AUP analisada, atenuar seus efeitos por meio da resiliência ecológica, protegendo quanto ao desenvolvimento de uma maturidade precoce. Todavia, essa ação protetora do leite materno não deve ser uma “carta branca” para o consumo de AUP nessa idade, uma vez que esse período é uma janela de oportunidades para formação de hábitos, incluindo os alimentares, sendo eles positivos ou negativos. Uma hora o aleitamento materno acaba, mas os hábitos alimentares permanecem.

8 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

Por mais que a composição da microbiota intestinal tenha sido amplamente estudada em recém-nascidos e lactentes, há uma necessidade de mais estudos que investiguem a composição específica da microbiota intestinal com maior ênfase em bebês com um e dois anos de idade, auxiliando para um maior entendimento das trajetórias da composição da microbiota intestinal dentro do período dos primeiros mil dias.

É também necessário que haja fomento a estudos sobre os efeitos a longo prazo do consumo de AUP na microbiota intestinal ao primeiro ano de vida, principalmente com delineamento de coorte prospectiva desde a gravidez ou ao nascimento, que seriam especialmente úteis na determinação de seu impacto nas condições de saúde, desenvolvimento e capital humano na infância, adolescência e vida adulta.

Ainda, inclusão de análises multi ômicas, como metagenômica, metatranscriptômica e metabolômica, agregaria muita robustez na precisão e interrelação dos dados para análises dos mecanismos biológicos e fisiológicos da microbiota intestinal no primeiro ano de vida, subjacentes ao consumo de AUP. Todavia, os custos de implementação dessas biotecnologias ainda são elevados, o que limita sua utilização em pesquisas com grande população de estudo e coleta de amostras temporais, também necessitando fomento de agências públicas, governamentais ou independentes para sua realização de forma isenta.

Considerando a enorme discrepância no *locus* de produção científica, sendo a maioria esmagadora dos estudos de microbiota intestinal, não só nas faixas etárias mais jovens, se concentrando no hemisfério Norte, em países de alta renda, e quando realizados no hemisfério Sul, em geral, com populações isoladas, com padrões culturais muito característicos e/ou em extrema pobreza, é importante que haja interesse dos pesquisadores em retratar populações em condições sociodemográficas e econômicas não extremas.

Por fim, embora seja lógico o maior esforço em descrever sobre as bactérias e suas implicações funcionais na saúde e na doença do hospedeiro, já que representam em quase totalidade a abundância de microrganismos da microbiota intestinal, maiores estudos sobre a composição, função e interação das archaea, fagos, vírus e fungos devem ser realizados, uma vez que suas atuações na microbiota intestinal podem ser tão importantes quanto às bactérias, mas estão sendo negligenciadas.

REFERÊNCIAS

- ABDILL, R. J.; ADAMOWICZ, E. M.; BLEKHMANN, R. Public human microbiome data are dominated by highly developed countries. *PLoS Biology*. 2022; 20(2): e3001536, 2022.
- ACHTSCHIN, C. G., & SIPAHI, A. M. The role of titanium dioxide in the gut. *Nutrition & Food Science*. 2017; 47:3.
- ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Opinion number 725: Vaginal Seeding. *Obstet Gynecol*. 2017; 130: e274.
- ADAMS, M. D., KELLEY, J. M., GOCAYNE, J. D. et al. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*. 1991; 252: 1651-1656.
- ADLERBERTH, I., STRACHAN, D. P., MATRICARDI, P. M., et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007; 120(2): 343– 350.
- AFSHIN, A., SUR, P. J., FAY, K. A. et al. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*. 2019; 393(10184): 1958-1972.
- AGUILAR-LOPEZ, M., DINSMOOR, A. M., HO, T. T., et al. A systematic review of the factors influencing microbial colonization of the preterm infant gut. *Gut Microbes*. 2021; 13(1): 1884514.
- ALESSANDRI, G., OSSIPRANDI, M. C., MACSHARRY, J., et al. Bifidobacterial dialogue with its human host and consequent modulation of the immune system. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10: 2348.
- AMARUDDIN, A. I., HAMID, F., KOOPMAN, J. P. R., et al. The bacterial gut microbiota of schoolchildren from high and low socioeconomic status: A study in an urban area of Makassar, Indonesia. *Microorganisms*. 2020; 8(6): 961.
- AMATO, K.R., ARRIETA, M., AZAD, M.B et al. The human gut microbiome and health inequities. *PNAS*. 2021; 118(25):e2017947118
- AZAD, M. B., KONYA, T., MAUGHAN, H., et al. Infant gut microbiota and the hygiene hypothesis of allergic disease: Impact of household pets and siblings on microbiota composition and diversity. *Journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*. 2013a; 9(1): 15.

AZAD, M. B., KONYA, T., MAUGHAN, H., et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ*. 2013b; 185(5): 385-394.

AZAD, M. B., KONYA, T., PERSAUD, R. R. et al. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2016; 123(6), 983-993.

BÄCKHED, F., LEY, R. E., SONNENBURG, J. L. et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005; 307: 1915-1920.

BÄCKHED, F., ROSWALL, J., PENG, Y. et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host & Microbe*. 2015; 17(5): 690-703.

BAGER, P., WOHLFAHRT, J., & WESTERGAARD, T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clinical & Experimental Allergy*. 2008; 38: 634-642.

BARKER D. J. P. Developmental origin of chronic disease. *Public Health*. 2012; 126: 185-189.

BEZIRTOGLOU, E., TSIOTSIAS, A., & WELLING, G. W.. Microbiota profile in feces of breast-and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. 2001; 17: 478-482.

BIER, A., BRAUN, T., KHASBAB, R., et al. A high salt diet modulates the gut microbiota and short chain fatty acids production in a salt-sensitive hypertension rat model. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1154.

BLANTON, L. V., CHARBONNEAU, M. R., SALIH, T., et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. *Science*. 2016; 351(6275): aad3311.

BLASER, M. J., & DOMINGUEZ-BELLO, M. G. The human microbiome before birth. *Cell Host & Microbe*. 2016; 20: 558-560.

BRASIL. Ministério da Educação. Lei nº 11.947, de 16 de junho de 2009. Atendimento da alimentação escolar e do Programa Dinheiro Direto na Escola aos alunos da educação básica. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas. Gestação de alto risco: manual técnico. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção   Saúde. Departamento de Atenção Básica. Orienta es para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde:

Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Lista de municípios pertencentes às áreas de risco ou endêmicas para malária em 2016. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para crianças menores de 2 anos / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. 2021.

BRINK, L. R., MERCER, K. E., PICCOLO, B. D. et al. Neonatal diet alters fecal microbiota and metabolome profiles at different ages in infants fed breast milk or formula. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2020; *111*: 1190-1202.

BRUCE, C. Y., SHANMUGANATHAN, M., AZAB, S. M., et al. The Relationship Between Diet, the Gut Microbiota and the Serum Metabolome of South Asian Infants at 1 Year. *The Journal of Nutrition*. 2023; *153*(2): 470-482.

BRUN, E., BARREAU, F., VERONESI, G. et al. Titanium dioxide nanoparticle impact and translocation through ex vivo, in vivo and in vitro gut epithelia. *Particle and Fiber Toxicology*. 2014; *11*(1): 13.

BUTLER, É. M., CHIAVAROLI, V., DERRAIK, J. G., et al. Maternal bacteria to correct abnormal gut microbiota in babies born by C-section. *Medicine*. 2020; *99*(30).

CAPORASO J. G., KUCZYNSKI J., STOMBAUGH J. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; *7*:335-6.

CAPORASO J. G., LAUBER C. L., WALTERS W. A. et al. Ultra-high throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J*. 2012; *6*:1621-1624.

CARDOSO, M. A., MATIJASEVICH, A., MALTA, M. B. et al. Cohort profile: the Maternal and Child Health and Nutrition in Acre, Brazil, birth cohort study (MINA-Brazil). *BMJ Open*. 2020; *10*.

CARVALHO-RAMOS, I. I., DUARTE, R. T., BRANDT, K. G., et al. Breastfeeding increases microbial community resilience. *Jornal de Pediatria*. 2018; *94*: 258-267.

CHABÉ, M., LOKMER, A., SÉGUREL, L. Gut protozoa: friends or foes of the human gut microbiota?. *Trends in Parasitology*. 2017; 33: 925-934.

CHANG, K., KHANDPUR, N., NERI, D., et al., Association Between Childhood Consumption of Ultraprocessed Food and Adiposity Trajectories in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children Birth Cohort. *JAMA Pediatrics*. 2021; 211573-211573.

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

CHILE - Ministerio de Salud. Modifica decreto supremo n° 977, de 1996, del ministerio de salud, reglamento sanitario de los alimentos. 2017. Disponible en: <https://www.diariooficial.interior.gob.cl/publicaciones/2017/11/28/41919/01/1309763.pdf>

CHONG, C. W., AHMAD, A. F., LIM, Y. A. L., et al. Effect of ethnicity and socioeconomic variation to the gut microbiota composition among pre-adolescent in Malaysia. *Scientific Reports*. 2015; 5(1): 1-12.

CHU, D. M., ANTONY, K. M., MA, J. et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. *Genome Medicine*. 2016; 8(1): 1-12.

CLAESSON, M., JEFFERY, I., CONDE, S., et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 2012; 488(7410): 178– 184.

COLE J. R., WANG Q., FISH J. A., et al. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res*. 2014; 42: D633-42.

COLLADO, M. C., ISOLAURI, E., LAITINEN, K., et al. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008; 88: 894-899.

COLLADO, M. C., ISOLAURI, E., LAITINEN, K., et al. Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2010. 92(5): 1023-1030.

COLLADO, M. C., RAUTAVA, S., AAKKO, J., et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports*. 2016 6(1): 1-13.

COPPA, G. V., ZAMPINI, L., GALEAZZI, T et al. Prebiotics in human milk: a review. *Digestive and Liver Disease*. 2006; 38: S291-S294.

COSCIA, A., BARDANZELLU, F., CABONI, E., et al. When a neonate is born, so is a microbiota. *Life*. 2021; 11(2): 148.

DA COSTA LOUZADA, M. L., RICARDO, C. Z., STEELE, E. M. et al. The share of ultra-processed foods determines the overall nutritional quality of diets in Brazil. *Public Health Nutrition*. 2018; 21: 94-102.

DA COSTA LOUZADA, M. L., DA CRUZ, G. L., SILVA, K. A., et al. Consumo de alimentos ultraprocessados no Brasil: distribuição e evolução temporal 2008–2018. *Revista de Saúde Pública*. 2023; 57(1): 12-12.

DAL BOM J. P., MAZZUCCHETTI L., MALTA M. B., et al. Early determinants of linear growth and weight attained in the first year of life in a malaria endemic region. *PLoS One*. 2019; 14:e0220513.

DANIEL, H., GHOLAMI, A. M., BERRY, D., et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *The ISME Journal*. 2014; 8(2): 295-308.

DARLING, J. C., BAMIDIS, P. D., BURBERRY, J. et al. The First Thousand Days: early, integrated and evidence-based approaches to improving child health: coming to a population near you?. *Archives of Disease in Childhood*. 2020; 105: 837-841.

DAVID, L. A., MAURICE, C. F., CARMODY, R. N., et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014; 505(7484): 559-563.

DAVIS, M. Y., ZHANG, H., BRANNAN, L. E., et al. Rapid change of fecal microbiome and disappearance of *Clostridium difficile* in a colonized infant after transition from breast milk to cow milk. *Microbiome*. 2016; 4(1): 1-10.

DECKER, E., HORNEF, M., & STOCKINGER, S. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Gut Microbes*. 2011 2: 91-98.

DE FILIPPO, C., CAVALIERI, D., DI PAOLA, M. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107: 14691-14696.

DE FILIPPO, C., DI PAOLA, M., RAMAZZOTTI, M. et al. Diet, environments, and gut microbiota. A preliminary investigation in children living in rural and urban Burkina Faso and Italy. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 1979

DE ONIS, M., ONYANGO, A. W., BORGHI, E. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ*. 2007; 85:660–7.

DEN BESTEN, G., VAN EUNEN, K., GROEN, A. K. et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*. 2013; 54(9): 2325-2340.

DIFFERDING, M. K., BENJAMIN-NEELON, S. E., HOYO, C. et al. Timing of complementary feeding is associated with gut microbiota diversity and composition and short chain fatty acid concentrations over the first year of life. *BMC Microbiology*. 2020; 20: 1-13.

DiGIULIO, D. B., ROMERO, R., AMOGAN, H. P. et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PloS One*. 2008; 3: e3056.

DINH, D. M., RAMADASS, B., KATTULA, D., et al. Longitudinal analysis of the intestinal microbiota in persistently stunted young children in South India. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0155405.

DOMINGUEZ-BELLO, M. G., COSTELLO, E. K., CONTRERAS, M. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107: 11971-11975.

DONG, L., XIE, J., WANG, Y. et al. Gut Microbiota and Immune Responses. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1238: 165-193.

DUMAS, A., CORRAL, D., COLOM, A. et al. The host microbiota contributes to early protection against lung colonization by *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: 2656.

ECKBURG, P. B., BIK, E. M., BERNSTEIN, C. N. et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005; 308: 1635-1638.

EDGAR, R. C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature methods*, 2013; 10: 996-998.

FABIANO, V., INDRIO, F., VERDUCI, E., et al. Term Infant Formulas Influencing Gut Microbiota: An Overview. *Nutrients*. 2021; 13(12): 4200.

FALLANI, M., AMARRI, S., UUSIJARVI, A. et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology*. 2011; 157(5): 1385-1392.

FERGUSON, J. F., ADEN, L. A., BARBARO, N. R. et al. High dietary salt-induced DC activation underlies microbial dysbiosis-associated hypertension. *JCI Insight*. 2019; 4(13).

FILMER D, & PRITCHETT LH. Estimating Wealth Effects Without Expenditure Data—Or Tears: An Application To Educational Enrollments In States Of India*. *Demography*. 2001; 38:115-32.

FJALSTAD, J. W., ESAIASSEN, E., JUVET, L. K. et al. Antibiotic therapy in neonates and impact on gut microbiota and antibiotic resistance development: a systematic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018; 73(3): 569-580.

FLANNERY, J. E., STAGAMAN, K., BURNS, A. R., et al. Gut feelings begin in childhood: the gut metagenome correlates with early environment, caregiving, and behavior. *MBio*. 2020; 11(1): e02780-19.

FOSTER, Z. S., SHARPTON, T. J., GRÜNWARD, N. J. “Metacoder: An R package for visualization and manipulation of community taxonomic diversity data.”. *PLOS Computational Biology*. 2017; 13(2): 1-15

FOUHY, F., WATKINS, C., HILL, C. J., et al. Perinatal factors affect the gut microbiota up to four years after birth. *Nature Communications*. 2019; 10(1): 1-10.

FRANKENFELD, C. L., SIKAROODI, M., LAMB, E. et al. High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Annals of Epidemiology*. 2015; 25(10): 736-742.

GACI, N., BORREL, G., TOTTEY, W. et al. Archaea and the human gut: new beginning of an old story. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; 20: 16062-16078.

GALLEY, J. D., BAILEY, M., KAMP DUSH, C., et al. Maternal obesity is associated with alterations in the gut microbiome in toddlers. *PloS One*. 2014; 9(11): e113026.

GERASIMIDIS, K., BRYDEN, K., CHEN, X., et al. The impact of food additives, artificial sweeteners and domestic hygiene products on the human gut microbiome and its fibre fermentation capacity. *European Journal of Nutrition*. 2020; 59(7): 3213-3230.

GHOSH, T.S., SEN GUPTA, S., BHATTACHARYA, T., et al. Gut Microbiomes of Indian Children of Varying Nutritional Status. *PLoS One*. 2014; 9: e95547.

GILL, S. R., POP, M., DEBOY, R. T. et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006; 312: 1355-1359.

GÓMEZ-MARTÍN, M., SATURIO, S., ARBOLEYA, S., et al. Association between diet and fecal microbiota along the first year of life. *Food Research International*. 2022; 162: 111994.

GRECH, A., COLLINS, C. E., HOLMES, A., et al. Maternal exposures and the infant gut microbiome: a systematic review with meta-analysis. *Gut Microbes*. 2021; 13(1): 1897210..

GUAN, W.; YANG, S.; ZHAO, Y., et al. Observation of the Gut Microbiota Profile in C57BL/6 Mice Induced by Plasmodium berghei ANKA Infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021, 11: 680383.

GUARALDI, F., & SALVATORI, G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2012; 2: 94.

GUARNER, F. Symbiosis in the human gastrointestinal tract. *Nutricion Hospitalaria.* 2020; 37(2): 34-37.

HE, Y., WU, W., WU, S., et al. Linking gut microbiota, metabolic syndrome and economic status based on a population-level analysis. *Microbiome.* 2018; 6(1): 1-11.

HENRICK, B. M., RODRIGUEZ, L., LAKSHMIKANTH, T., et al. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. *Cell.* 2021; 184(15): 3884-3898.

HO, N. T., LI, F., LEE-SARWAR, K. A., et al. Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nature Communications.* 2018; 9(1): 1-13.

HODGES, K., & GILL, R. Infectious diarrhea. *Gut Microbes.* 2010; 1(1): 4–21.

HRNCIROVA, L., HUDCOVIC, T., SUKOVA, E., et al. Human gut microbes are susceptible to antimicrobial food additives in vitro. *Folia Microbiologica.* 2019; 64: 497-508.

IANIRO, G., BRUNO, G., LOPETUSO, L. et al. Role of yeasts in healthy and impaired gut microbiota: the gut mycome. *Current Pharmaceutical Design.* 2014; 20: 4565-4569.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (2010). Panorama. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ac/cruzeiro-do-sul/panorama>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (2019). POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/46/0?ano=2017-2018&localidade1=120020&localidade2=0>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (2020). Cidades e Estados. <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ac/cruzeiro-do-sul.html>

JHA, A. R., DAVENPORT, E. R., GAUTAM, Y., et al. Gut microbiome transition across a lifestyle gradient in Himalaya. *PLoS Biology.* 2018; 16(11): e2005396.

JIAN, C., LUUKKONEN, P., SÄDEVIRTA, S., et al. Impact of short-term overfeeding of saturated or unsaturated fat or sugars on the gut microbiota in relation to liver fat in obese and overweight adults. *Clinical Nutrition*. 2021; 40(1): 207-216.

JOST, L. Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology*. 2007; 88(10): 2427-2439.

JOURDAN P. M., LAMBERTON P. H. L., FENWICK A., et al. Soil-transmitted helminth infections. *Lancet*. 2018; 391: 252–265.

JUUL, F., VAIDEAN, G., & PAREKH, N. Ultra-processed Foods and Cardiovascular Diseases: Potential Mechanisms of Action. *Advances in Nutrition*. 2021; 12(5): 1673-1680.

JIMÉNEZ, E., FERNÁNDEZ, L., MARÍN, M. L. et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Current Microbiology*. 2005; 51: 270-274.

KAAKOUSH, N. O., CASTAÑO-RODRÍGUEZ, N., MITCHELL, H. M., et al. Global Epidemiology of Campylobacter Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28(3): 687–720.

KARVONEN, A. M., SORDILLO, J. E., GOLD, D. R., et al. Gut microbiota and overweight in 3-year old children. *International Journal of Obesity*. 2019; 43(4): 713-723.

KASAI, C., SUGIMOTO, K., MORITANI, I., et al. Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing. *BMC Gastroenterology*. 2015; 15: 1-10.

KHINE, W. W. T., RAHAYU, E. S., SEE, T. Y. et al. Indonesian children fecal microbiome from birth until weaning was different from microbiomes of their mothers. *Gut Microbes*. 2020; 1-19.

KORPELA, K., HELVE, O., KOLHO, K. L., et al. Maternal fecal microbiota transplantation in cesarean-born infants rapidly restores normal gut microbial development: a proof-of-concept study. *Cell*. 2020; 183(2): 324-334.

KRISTENSEN, K.H.S., WIESE, M., RYTTER, M.J.H., et al. Gut Microbiota in Children Hospitalized with Oedematous and Non-Oedematous Severe Acute Malnutrition in Uganda. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10: e0004369.

KUCZYNSKI, J., STOMBAUGH, J., WALTERS, W. A., et al. QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from microbial communities. *Curr Protoc Microbiol*. 2012; 1: 1E.5.

KUNZ, C., RUDLOFF, S., BAIER, W. et al. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annual Review of Nutrition*. 2000; 20: 699-722.

KUPRITZ, J., ANGELOVA, A., NUTMAN, T. B., et al. Helminth-induced human gastrointestinal dysbiosis: a systematic review and meta-analysis reveals insights into altered taxon diversity and microbial gradient collapse. *Mbio*. 2021; 12(6): e02890-21.

LADOMENOU, F., MOSCHANDREAS, J., KAFATOS, A. et al. Protective effect of exclusive breastfeeding against infections during infancy: a prospective study. *Archives of Disease in Childhood*. 2010; 95: 1004-1008.

LAFORST-LAPOINTE, I., BECKER, A. B., MANDHANE, P. J., et al. Maternal consumption of artificially sweetened beverages during pregnancy is associated with infant gut microbiota and metabolic modifications and increased infant body mass index. *Gut Microbes*. 2021; 13(1): 1857513.

LANE, A. A., MCGUIRE, M. K., MCGUIRE, M. A., et al. Household composition and the infant fecal microbiome: The INSPIRE study. *American Journal of Physical Anthropology*. 2019; 169(3): 526-539.

LAURSEN, M. F., ANDERSEN, L. B., MICHAELSEN, K. F., et al. Infant gut microbiota development is driven by transition to family foods independent of maternal obesity. *Mosphere*. 2016; 1(1).

LAURSEN, M. F., BAHL, M. I., MICHAELSEN, K. F. et al. First foods and gut microbes. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 356.

LAWSON, M. A., O'NEILL, I. J., KUJAWSKA, M., et al. Breast milk-derived human milk oligosaccharides promote Bifidobacterium interactions within a single ecosystem. *The ISME Journal*. 2020; 14(2): 635-648.

LEO, E. E. M., & CAMPOS, M. R. S. Effect of ultra-processed diet on gut microbiota and thus its role in neurodegenerative diseases. *Nutrition*. 2020; 71:110609.

LEONG, C., HASZARD, J. J., LAWLEY, B. et al. Mediation analysis as a means of identifying dietary components that differentially affect the fecal microbiota of infants weaned by modified baby-led and traditional approaches. *Applied and Environmental Microbiology*. 2018; 84(18).

LEVIN, A. M., SITARIK, A. R., HAVSTAD, S. L., et al. Joint effects of pregnancy, sociocultural, and environmental factors on early life gut microbiome structure and diversity. *Scientific Reports*. 6(1): 1-16.

LEVINE, M. M., NASRIN, D., ACÁCIO, S., et al. Diarrhoeal disease and subsequent risk of death in infants and children residing in low-income and middle-income countries: analysis of

the GEMS case-control study and 12-month GEMS-1A follow-on study. *Lancet Glob. Health*. 2020; 8(2): e204–e214.

LEY, R. E., PETERSON, D. A., & GORDON, J. I.. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006; 124(4): 837-848.

LIN, F. H., & PEDDADA, S. D. Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nature Communications*. 2020; 11(1): 3514.

LODGE, C. J., TAN, D. J., LAU, M. X. Z., et al. Breastfeeding and asthma and allergies: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatrica*. 2015; 104: 38-53.

LOURENÇO, B. H., LIMA, D. L., VIVANCO, E., et al. Agreement between antenatal gestational age by ultrasound and clinical records at birth: A prospective cohort in the Brazilian Amazon. *Plos One*. 2020; 15(7): e0236055.

LOZUPONE, C. A., & KNIGHT, R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005; 71(12): 8228-8235.

LOZUPONE, C. A., HAMADY, M., KELLEY, S. T. et al. Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73(5): 1576-1585.

LUNDGREN, S. N., MADAN, J. C., EMOND, J. A., et al. Maternal diet during pregnancy is related with the infant stool microbiome in a delivery mode-dependent manner. *Microbiome*. 2018; 6(1): 1-11.

LYNCH, J. W., SMITH, G. D., KAPLAN, G. A. et al. Income inequality and mortality: importance to health of individual income, psychosocial environment, or material conditions. *BMJ*. 2000; 320(7243): 1200-1204.

MA, J., Li, Z., ZHANG, W. et al. Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants. *Scientific Reports*. 2020; 10(1): 1-11.

MAGNE, F., GOTTELAND, M., GAUTHIER, L. et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?. *Nutrients*. 2020; 12(5): 1474.

MALESZA, I. J., MALESZA, M., WALKOWIAK, J., et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells*. 2021; 10(11): 3164.

MANDAL, R. K., CRANE, R. J., BERKLEY, J. A., et al. Longitudinal analysis of infant stool bacteria communities before and after acute febrile malaria and artemether-lumefantrine treatment. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 220(4): 687-698.

MANDAL, R. K., DENNY, J. E., NAMAZZI, R., et al. Dynamic modulation of spleen germinal center reactions by gut bacteria during Plasmodium infection. *Cell Reports*. 2021; 35(6): 109094.

MAO, Z., LI, Y., DONG, T., et al. Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy changed maternal gut microbiota and increased blood glucose of rat. *Nanoscale Research Letters*. 2019; 14: 1-8.

MASLOWSKI, K. M., & MACKAY, C. R. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature Immunology*. 2011; 12: 5-9.

MATAMOROS, S., GRAS-LEGUEN, C., LE VACON, F., et al Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in Microbiology*. 2013; 21(4): 167-173.

MATSUYAMA, M., MORRISON, M., LE CAO, K. A. et al. Dietary intake influences gut microbiota development of healthy Australian children from the age of one to two years. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 1-11.

MCGUIRE, M. K., & MCGUIRE, M. A. Human milk: mother nature's prototypical probiotic food?. *Advances in Nutrition*. 2005; 6:112-123.

MILANI, C., LUGLI, G. A., DURANTI, S., et al. Bifidobacteria exhibit social behavior through carbohydrate resource sharing in the gut. *Scientific Reports*. 2015; 5(1): 1-14.

MIRANDA, A. E., PINTO, V. M., SZWARCOWALD, C. L., et al. Prevalence and correlates of preterm labor among young parturient women attending public hospitals in Brazil. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 2012; 32(5): 330-334.

MITCHELL, R., & POPHAM, F. Effect of exposure to natural environment on health inequalities: an observational population study. *The Lancet*. 2008; 372(9650): 1655-1660.

MOLES, L., GOMEZ, M., HEILIG, H. et al. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PloS One*. 2013; 8: 66986.

MONDAL D., MINAK J., ALAM M., et al. Contribution of enteric infection, altered intestinal barrier function, and maternal malnutrition to infant malnutrition in Bangladesh. *Clin. Infect. Dis*. 2012; 54: 185–192

MONIRA S., NAKAMURA S., GOTOH K., et al. Gut microbiota of healthy and malnourished children in Bangladesh. *Front. Microbiol*. 2011; 2:228.

MONTEIRO, C. A., LEVY, R. B., CLARO, R. M., et al. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cadernos de Saude Publica*. 2010; 26: 2039-2049.

MONTEIRO, C. A., MOUBARAC, J. C., CANNON, G., et al. Ultra- processed products are becoming dominant in the global food system. *Obesity Reviews*. 2013; 14: 21-28.

MOONEY, J.; LOKKEN, K.L.; BYNDLOSS, M., et al. Inflammation-associated alterations to the intestinal microbiota reduce colonization resistance against non-typhoidal *Salmonella* during concurrent malaria parasite infection. *Sci. Rep.* 2015; 5: srep14603

MOOSSAVI, S., MILIKU, K., SEPEHRI, S., et al. The prebiotic and probiotic properties of human milk: implications for infant immune development and pediatric asthma. *Frontiers in Pediatrics*. 2018; 6: 197.

MORRISON, D. J., & PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 2016; 7(3): 189-200.

MOSQUERA P. S., LOURENÇO B. H., GIMENO S. G. A., et al. Factors affecting exclusive breastfeeding in the first month of life among Amazonian children. *PLoS One*. 2019; 14: e0219801.

MOUBARAC, J. C., BATAL, M., LOUZADA, M. L., et al. Consumption of ultra-processed foods predicts diet quality in Canada. *Appetite*. 2017; 108: 512-520.

MSHVILDADZE, M., NEU, J., SHUSTER, J., et al. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *The Journal of Pediatrics*. 2010; 156: 20-25.

MUELLER, N. T., SHIN, H., PIZONI, A., et al. Birth mode-dependent association between pre-pregnancy maternal weight status and the neonatal intestinal microbiome. *Scientific Reports*. 2016; 6(1):1-9.

MUTONI, J. D. A., COUTELIER, J. P., RUJENI, N., et al. Possible Interactions between Malaria, Helminthiases and the Gut Microbiota: A Short Review. *Microorganisms*. 2022; 10(4): 721.

NAIMI, S., VIENNOIS, E., GEWIRTZ, A. T., et al. Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota. *Microbiome*. 2021; 9(1): 1-19.

NASEM - National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Current Methods for Studying the Human Microbiome. In *Environmental Chemicals, the Human Microbiome, and Health Risk: A Research Strategy*. 2017.

- NEARING, J. T., DOUGLAS, G. M., HAYES, M. G., et al. Microbiome differential abundance methods produce different results across 38 datasets. *Nature Communications*. 2022; 13(1): 1-16.
- NEVES, P. A., LOURENCO, B. H., PINCELLI, A., et al. High prevalence of gestational night blindness and maternal anemia in a population-based survey of Brazilian Amazonian postpartum women. *Plos One*. 2019;14(7): e0219203.
- NG, S. W., RIVERA, J. A., POPKIN, B. M. et al. Did high sugar-sweetened beverage purchasers respond differently to the excise tax on sugar-sweetened beverages in Mexico?. *Public Health Nutrition*. 2019; 22(4): 750-756.
- NILSON, E. A., FERRARI, G., LOUZADA, M. L. C., et al. Premature Deaths Attributable to the Consumption of Ultraprocessed Foods in Brazil. *American Journal of Preventive Medicine*. 2023; 64(1): 129-136.
- NOGUEIRA, M. B., MAZZUCCHETTI, L., MOSQUERA, P. S., et al. Consumption of ultra-processed foods during the first year of life and associated factors in Cruzeiro do Sul, Brazil. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2022; 27: 725-736.
- O'KEEFE, S. J., LI, J. V., LAHTI, L., et al. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nature Communications*. 2015; 6(1): 1-14.
- PENDERS, J., THUIS, C., VINK, C., et al Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006; 118(2): 511– 521.
- PENDERS, J., GERHOLD, K., STOBBERINGH, E. E., et al. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 132(3): 601– 607.
- PEREZ-MUÑOZ, M. E., ARRIETA, M. C., RAMER-TAIT, A. E., et al. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*. 2017; 5(1): 1-19.
- PINCELLI A., NEVES P. A. R., LOURENÇO B. H., et al. The hidden burden of Plasmodium vivax malaria in pregnancy in the Amazon: an observational study in northwestern Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2018; 99:73–83
- PINGET, G., TAN, J., JANAC, B. et al. Impact of the food additive titanium dioxide (E171) on gut microbiota-host interaction. *Frontiers in Nutrition*. 2019; 6: 57.
- PIRES, E. S., HARDOIM, C. C. P., MIRANDA, K. R., et al. The gut microbiome and metabolome of two riparian communities in the Amazon. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 2003.

PYLRO, V. S., ROESCH, L. F., MORAIS, D. K., et al. Data analysis for 16S microbial profiling from different benchtop sequencing platforms. *J Microbiol Methods*. 2014; 107: 30-37.

QIN, J., LI, R., RAES, J., et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; 464(7285): 59-65.

RENZ-POLSTER, H., DAVID, M. R., BUIST, A. S. et al. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clinical & Experimental Allergy*. 2005; 35: 1466-1472.

REYES A., BLANTON L.V., CAO S., et al. Gut DNA viromes of Malawian twins discordant for severe acute malnutrition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015; 112: 11941–11946.

ROBERTS, C. L., KEITA, A. V., DUNCAN, S. H., et al. Translocation of Crohn's disease *Escherichia coli* across M-cells: contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifiers. *Gut*. 2010; 59: 1331-1339.

ROBERTSON, R. C., MANGES, A. R., FINLAY, B. B., et al. The human microbiome and child growth—first 1000 days and beyond. *Trends in Microbiology*. 2019; 27(2): 131-147.

RODRÍGUEZ, J. M., MURPHY, K., STANTON, C., et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2015; 26: 26050.

ROTHSCHILD, D., WEISSBROD, O., BARKAN, E., et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*. 2018; 555(7695): 210-215.

ROUSTA, E., OKA, A., LIU, B., et al. The Emulsifier Carboxymethylcellulose Induces More Aggressive Colitis in Humanized Mice with Inflammatory Bowel Disease Microbiota Than Polysorbate-80. *Nutrients*. 2021; 13(10): 3565-3581.

SAFER CARE VICTORIA & RANZOG - Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists. Vaginal seeding and lotus births - consensus statement. 2021. <https://www.safercare.vic.gov.au/clinical-guidance/maternity/vaginal-seeding-and-lotus-births-consensus-statement>

SÁNCHEZ, V. S., & SILVA, C. V. El impacto de la nueva ley de etiquetados de alimentos en la venta de productos en Chile. *Revista Perfiles Económicos*. 2018; 3: 1.

SANTACRUZ, A., COLLADO, M. C., GARCIA-VALDES, L., et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *British Journal of Nutrition*. 2010; 104(1): 83-92.

SCARPELLINI, E., IANIRO, G., ATILLI, F. et al. The human gut microbiota and virome: Potential therapeutic implications. *Digestive and Liver Disease*. 2015; 47: 1007-1012.

SCHAAN, A. P., SARQUIS, D., CAVALCANTE, G. C., et al. The structure of Brazilian Amazonian gut microbiomes in the process of urbanisation. *Biofilms and Microbiomes*. 2019; 7(1): 1-12.

SCHWIERTZ, A., TARAS, D., SCHÄFER, K., et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010; 18(1): 190-195.

SELMA-ROYO, M., GARCÍA-MANTRANA, I., CALATAYUD, M., et al. Maternal diet during pregnancy and intestinal markers are associated with early gut microbiota. *European Journal of Nutrition*. 2021; 60(3): 1429-1442.

SONNENBURG, E. D., & SONNENBURG, J. L. The ancestral and industrialized gut microbiota and implications for human health. *Nature Reviews Microbiology*. 2019; 17(6): 383-390.

SONG, S. J., LAUBER, C., COSTELLO, E. K., et al. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *eLife*. 2013; 2: e00458.

SONG, S. J., WANG, J., MARTINO, C., et al. Naturalization of the microbiota developmental trajectory of Cesarean-born neonates after vaginal seeding. *Med NY*. 2021; 2(8): 951-964.

SROUR, B., KORDAHI, M. C., BONAZZI, E., et al. Ultra-processed foods and human health: from epidemiological evidence to mechanistic insights. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2022; 1: 1-13.

STANISLAWSKI, M. A., DABELEA, D., WAGNER, B. D., et al. Pre-pregnancy weight, gestational weight gain, and the gut microbiota of mothers and their infants. *Microbiome*. 2017; 5(1): 1-12.

STATOVCI, D., AGUILERA, M., MacSHARRY, J., et al. The impact of western diet and nutrients on the microbiota and immune response at mucosal interfaces. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 838.

STINSON, L. F., BOYCE, M. C., PAYNE, M. S. et al. The not-so-sterile womb: evidence that the human fetus is exposed to bacteria prior to birth. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 1124.

SUBRAMANIAN S., HUQ S., YATSUNENKO T., et al. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladesh children. *Nature*; 2014; 510: 417-421

SUEZ, J., KOREM, T., ZEEVI, D., et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 2014; 514(7521): 181-186.

SUEZ, J., KOREM, T., ZILBERMAN-SCHAPIRA, G., et al. Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: findings and challenges. *Gut Microbes*. 2015; 6(2): 149-155.

SUEZ, J., COHEN, Y., VALDÉS-MAS, R., et al. Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance. *Cell*. 2022; 185(18): 3307-3328.

SUN, S., LUO, L., LIANG, W., et al. Bifidobacterium alters the gut microbiota and modulates the functional metabolism of T regulatory cells in the context of immune checkpoint blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(44): 27509-27515.

SURONO, I. S., WIDIYANTI, D., KUSUMO, P. D., et al. Gut microbiota profile of Indonesian stunted children and children with normal nutritional status. *PloS One*. 2021; 16(1): e0245399.

TANIGUCHI, T.; MIYAUCHI, E.; NAKAMURA, S.; et al. Plasmodium berghei ANKA causes intestinal malaria associated with dysbiosis. *Sci. Rep*. 2015; 5: 15699.

TIDJANI A. M., MILLION M., TRAORE S. I., et al. Gut Bacteria Missing in Severe Acute Malnutrition, Can We Identify Potential Probiotics by Culturomics? *Front. Microbiol*. 2017; 8:899.

TIROSH, A., CALAY, E. S., TUNCMAN, G., et al. The short-chain fatty acid propionate increases glucagon and FABP4 production, impairing insulin action in mice and humans. *Science Translational Medicine*. 2019; 11: 489.

TUN, H. M., KONYA, T., TAKARO, T. K., et al. Exposure to household furry pets influences the gut microbiota of infants at 3–4 months following various birth scenarios. *Microbiome*. 2017; 5(1): 40.

TURNBAUGH, P. J., LEY, R. E., HAMADY, M., et al. The human microbiome project. *Nature*. 2007; 449(7164): 804-810.

TURNBAUGH, P. J., RIDAURA, V. K., FAITH, J. J., et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science Translational Medicine*. 2009; 1(6): 6-14.

UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Alimentação Infantil I: Prevalência de indicadores de alimentação de crianças menores de 5 anos: ENANI 2019. - Documento eletrônico. - Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2021; 135.

UNICEF - United Nations Children's Fund. Strategy for improved nutrition of children and women in developing countries. *Indian J. Pediatr*. 1991;58:13–24.

UNICEF - United Nations Children's Fund. Levels and Trends in Child Malnutrition: Key Findings of the 2018 Edition of the Joint Child Malnutrition Estimates. 2018.

VANGAY, P., JOHNSON, A. J., WARD, T. L., et al. US immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell*. 2018; 175(4): 962-972.

VICTORA, C. G., ADAIR, L., FALL, C., et al. Maternal and child undernutrition: consequences for adult health and human capital. *The Lancet*. 2008; 371: 340-357.

VILLAR, J., CHEIKH, I. L., VICTORA, C. G., et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project. *Lancet*. 2014; 384: 857-68.

VILLARINO, N. F., LeCLEIR, G. R., DENNY, J. E., et al. Composition of the gut microbiota modulates the severity of malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016; 113(8): 2235-2240.

WALKER, A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *The Journal of Pediatrics*. 2010; 15: S3-S7.

WALSH, C., LANE, J. A., VAN SINDEREN, D., et al. Human milk oligosaccharide-sharing by a consortium of infant derived Bifidobacterium species. *Scientific Reports*. 2022; 12(1): 4143.

WAN, Y., WANG, F., YUAN, J., et al. Effects of dietary fat on gut microbiota and faecal metabolites, and their relationship with cardiometabolic risk factors: a 6-month randomised controlled-feeding trial. *Gut*. 2019; 68(8): 1417-1429.

WANG, H. X., & WANG, Y. P. Gut microbiota-brain axis. *Chinese Medical Journal*. 2016; 129(19): 2373-2380.

WANG, Y., XIE, T., WU, Y., et al. Impacts of Maternal Diet and Alcohol Consumption during Pregnancy on Maternal and Infant Gut Microbiota. *Biomolecules*. 2021; 11(3): 369.

WHITTAKER, R. H. Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*. 1972; 21(2-3): 213-251.

WHO - World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report on a WHO Expert Committee. 1995.

WHO - World Health Organization. Indicators for assessing infant and young child feeding practices: part 2: measurement. 2010.

- WHO – World Health Organization. Born too soon: the global action report on preterm birth. 2012.
- WHO - World Health Organization. Country profiles - Brazil. 2016.
- WHO - World Health Organization. World malária report 2017. Geneva, 2017.
- WHO - World Health Organization. Enabling women to breastfeed through better policies and programmes: Global breastfeeding scorecard. 2018.
- WHO - World Health Organization - World Malária Report 2021. Genebra, Suíça, 2021.
- WILLIAMSON, L. L., McKENNEY, E. A., HOLZKNECHT, Z. E., et al. Got worms? Perinatal exposure to helminths prevents persistent immune sensitization and cognitive dysfunction induced by early-life infection. *Brain, Behavior and Immunity*. 2016; 51: 14-28.
- WOPEREIS, H., OOZEER, R., KNIPPING, K., et al. The first thousand days–intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2014; 25: 428-438.
- YAN, T., SHI, L., XU, K., et al. Habitual intakes of sugar-sweetened beverages associated with gut microbiota-related metabolites and metabolic health outcomes in young Chinese adults. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2023; 33(2): 359-368.
- YATSUNENKO, T., REY, F. E., MANARY, M. J., et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012; 486: 222-227.
- YILMAZ, B., PORTUGAL, S., TRAN, T. M., et al. Gut microbiota elicits a protective immune response against malaria transmission. *Cell*. 2014; 159: 1277-1289.
- YOOSEPH, S.; KIRKNESS, E. F.; TRAN, T. M., et al. Stool microbiota composition is associated with the prospective risk of Plasmodium falciparum infection. *BMC Genom*. 2015, 16: 631.
- ZHANG, S., LI, T., XIE, J., et al. Gold standard for nutrition: a review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota. *Microbial Cell Factories*. 2021; 20(1): 1-16.
- ZHOU, P., ZHOU, Y., LIU, B., et al. Perinatal Antibiotic Exposure Affects the Transmission between Maternal and Neonatal Microbiota and Is Associated with Early-Onset Sepsis. *Msphere*. 2020; 5(1): e00984-19.

ANEXOS

- Anexo 1 Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo
- Anexo 2 Emenda de parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo
- Anexo 3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido na linha de base do projeto de pesquisa Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo Estudo MINA
- Anexo 4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no seguimento do primeiro ano de vida do projeto de pesquisa Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo Estudo MINA

Anexo 1

**Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa
da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo**



FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Coorte Materno-Infantil no ACRE: MINA-2015

Pesquisador: Marly Augusto Cardoso

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 36678614.6.0000.5421

Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo
- FSP/USP

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E
INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 872.613

Data da Relatoria:

13/11/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se da segunda apresentação do projeto. É um estudo de coorte de nascimentos para investigação de determinantes medidos na gestação associados ao perfil de saúde e nutrição na primeira infância em Cruzeiro do Sul, interior do estado do Acre.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

"Investigar determinantes medidos na gestação associados ao perfil de saúde e nutrição de puérperas e crianças em Cruzeiro do Sul, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira".

Objetivos Específicos

"Descrever as características sócio demográficas, obstétricas, nutricionais e neonatais materno-infantil; investigar determinantes do perfil de saúde e nutrição de gestantes e sua relação com características perinatais e neonatais materno-infantil. Investigar determinantes do perfil de saúde e nutrição de gestantes e sua relação com a saúde e desenvolvimento infantil".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos foram complementados em relação à primeira apresentação do projeto, atendendo as recomendações apontadas no parecer anterior. Na versão atual, no TCLE, lê-se: "O desconforto esperado com a participação neste estudo refere-se às entrevistas com perguntas de caráter pessoal e coleta de sangue venoso que utilizará profissionais treinados e material descartável. Por isso, os riscos são mínimos e comparáveis a qualquer outra coleta de sangue em laboratórios de análises clínicas".

Benefícios: A autora relata que "Gestantes com diagnóstico de anemia, deficiência de vitamina A ou malária confirmado por microscopia receberão tratamento medicamentoso gratuito pela equipe médica do projeto em parceria com as equipes de saúde da ESF do município de acordo com os esquemas terapêuticos do Ministério da Saúde. "

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo relevante que pode contribuir para o planejamento de ações de intervenção visando redução do risco gestacional associado a morbidades e distúrbios nutricionais e suas consequências na saúde infantil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todas as pendências foram atendidas.

Recomendações:

Pela aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 14 de novembro de 2014

Assinado por:

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo
(Coordenador)

Anexo 2

**Emenda de parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da
Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo**

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Coorte Materno-Infantil no ACRE: MINA-2015

Pesquisador: Marly Augusto Cardoso

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 3

CAAE: 36678614.6.0000.5421

Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP **Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.358.129

Apresentação do Projeto:

Trata-se de apresentação de emenda relacionada ao projeto anteriormente aprovado pelo CoEP FSP/USP (Parecer nº 872.613, 13/11/2014). É um estudo de coorte de nascimentos para investigação de determinantes medidos na gestação associados ao perfil de saúde e nutrição na primeira infância em Cruzeiro do Sul, interior do estado do Acre. Na presente emenda do projeto original solicita-se a inclusão das seguintes etapas não previstas no projeto inicial para o acompanhamento dos bebês participantes da Coorte MINA:

1. Coleta de sangue venoso no seguimento dos bebês;
2. Coleta de amostras de fezes para avaliação de microbiota intestinal;
3. Avaliação de saúde bucal aos 24 meses de idade.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Objetivo geral do estudo original: Investigar determinantes medidos na gestação associados ao perfil de saúde e nutrição de puérperas e crianças em Cruzeiro do Sul, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira.

Objetivo geral da emenda: Na presente emenda do projeto original, solicita-se a inclusão das etapas não previstas no projeto inicial para o acompanhamento dos bebês participantes da Coorte MINA: coleta de sangue, fezes e avaliação de saúde bucal.

Objetivos

específicos Do

projeto original:

Descrever as características sócio demográficas, obstétricas, nutricionais e neonatais materno-infantil; Investigar determinantes do perfil de saúde e nutrição de gestantes e sua relação com características perinatais e neonatais materno-infantil;

Investigar determinantes do perfil de saúde e nutrição de gestantes e sua relação com a saúde e desenvolvimento infantil.

Da emenda:

Fazer exames sanguíneos para seguimento da coorte;

Conduzir investigações longitudinais sobre possíveis determinantes obstétricos e perinatais e a composição da microbiota intestinal na infância; Avaliar desfechos em saúde bucal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

No TCLE, lê-se: “O desconforto esperado com a participação neste estudo refere-se às entrevistas com perguntas de caráter pessoal, coleta de sangue venoso e exame odontológico que utilizará profissionais treinados e material descartável. Por isso, os riscos são mínimos e comparáveis a qualquer outra coleta de sangue em laboratórios de análises clínicas ou ao exame odontológico regular”.

Benefícios:

A autora relata no TCLE que “Seu bebê terá avaliação nutricional gratuita por equipe especializada, com acesso aos resultados de exames individuais, que ficarão arquivados no seu prontuário nos postos de saúde. Sempre que necessário, a equipe de pesquisa fará encaminhamentos para atendimento médico ou odontológico especializado junto ao Programa de Saúde da Família do município de Cruzeiro do Sul”.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo relevante que pode contribuir para o para o planejamento de ações de intervenção visando redução de morbidades e suas consequências na saúde infantil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos adequados.

Recomendações:

Pela aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--------------------------------------|------------------------|-------------------------|----------|
| Outros | Emenda_Desfechos_buciais.docx | 19/09/2017 11:20:18 | Ligia Went Rosa Mota | Aceito |
| Declaração do Patrocinador | Outorga.pdf | 19/09/2017 11:18:35 | Ligia Went Rosa Mota | Aceito |
| Outros | Ficha_OdontologicaMINA2017.pdf | 19/09/2017 11:16:34 | Ligia Went Rosa Mota | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_MINA2017.pdf | 19/09/2017 11:15:55 | Ligia Went Rosa Mota | Aceito |
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_688914_E1.pdf | 16/09/2017 14:32:58 | | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto Materno-infantilOut2014.pdf | 21/10/2014 10:48:34 | | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_Cruzeiro.pdf | 21/10/2014 10:47:59 | | Aceito |
| Outros | CZS5crianca.pdf | 24/09/2014 11:34:55 | | Aceito |
| Outros | CZS4parto.pdf | 24/09/2014 11:34:30 | | Aceito |
| Outros | CZS3avaliacoes.pdf | 24/09/2014 11:34:17 | | Aceito |
| Outros | CZS2sociodem_histsaude.pdf | 24/09/2014 | | Aceito |

| | | | | |
|--------|----------------------------|----------|--|--------|
| Outros | CZS2sociodem_histsaude.pdf | 11:34:02 | | Aceito |
|--------|----------------------------|----------|--|--------|

| | | | | |
|--|-------------------------------------|------------------------|--|--------|
| Outros | CZS1ficha_agente.pdf | 24/09/2014 11:33:38 | | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto Materno-infantilSet2014.pdf | 24/09/2014 11:33:05 | | Aceito |
| Folha de Rosto | Plataforma Brasil0001.pdf | 24/09/2014 11:32:31 | | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | CEPSS-CZS0001.pdf | 22/09/2014 17:08:50 | | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 30 de Outubro de 2017

Assinado por:
Maria Regina Alves Cardoso
(Coordenador)

Anexo 3

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido na linha de base do projeto de
pesquisa Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre:
Estudo MINA-Brasil**



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA

Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo Longitudinal de Base Populacional

Pesquisadora responsável: Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

OBJETIVOS E PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Este estudo tem por objetivo principal **estudar os fatores que influenciam a saúde e a nutrição de crianças de Cruzeiro do Sul desde o início de suas vidas, ainda no período da gestação**. Com as mudanças que observamos nas condições de saúde da nossa população, estudos com essa finalidade são importantes para identificar como prevenir o quanto antes a ocorrência de doenças e infecções, assim como o risco para deficiências nutricionais e distúrbios metabólicos, tanto em gestantes como em seus bebês.

Para isso, nosso estudo inclui três fases:

1º: nossa equipe de pesquisa em parceria com agentes de saúde realizará visitas domiciliares no município para **identificar todas as gestantes com idade gestacional de até 20 semanas**. Essas gestantes serão convidadas a participar do estudo e a responder um questionário inicial sobre a data de sua última menstruação e seus **dados socioeconômicos, demográficos e obstétricos**.

2º: serão agendadas duas **avaliações clínicas, entre 16-20ª semanas e entre 24-28ª semanas de gestação**, no Posto de Saúde do Agricultor. Em cada avaliação, nossa equipe de pesquisa realizará **exame de ultrassonografia** do bebê, medidas de **peso e altura** e coleta de amostra de **sangue venoso** (cerca de 12 mL) da gestante.

O exame de ultrassom será importante para acompanhar o crescimento e o desenvolvimento do bebê no útero da mãe. A amostra de sangue será colhida em jejum de oito horas para realização de hemograma completo, avaliar a presença de anemia, dosar vitaminas A, D e ácido fólico, glicose, insulina e infecção por malária.

3º: no momento **do parto no Hospital da Mulher e da Criança do Juruá**, nossa equipe registrará o tipo **de parto**, idade **gestacional**, **sexo, peso e comprimento do bebê**. Após o nascimento, será necessário colher uma amostra de **sangue do cordão umbilical** (cerca de 12 mL) e de **uma gota de sangue da placenta**. Também serão coletadas informações sobre possíveis problemas que ocorreram na gestação e sobre qualquer dificuldade que a gestante tenha apresentado para enxergar claramente no período.

A coleta de amostras de sangue do cordão umbilical e da placenta ocorrerá após o parto; portanto, não será dolorosa nem para a mãe e nem para seu bebê. Esse material será muito importante para

dosar vitaminas e minerais, avaliar características genéticas e presença de malária no bebê recém-nascido.



Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Departamento de Nutrição



BENEFÍCIOS E RISCOS EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Ao participar da pesquisa, a gestante e seu bebê terão avaliação nutricional gratuita por equipe especializada, com acesso **aos resultados de exames individuais**, que ficarão arquivados no seu prontuário do Hospital da Mulher e da Criança do Juruá e/ou nos postos de saúde.

O desconforto esperado com a participação neste estudo refere-se às entrevistas com perguntas de caráter pessoal e coleta de sangue venoso que utilizará profissionais treinados e material descartável. Por isso, os riscos são mínimos e comparáveis a qualquer outra coleta de sangue em laboratórios de análises clínicas.

GARANTIAS, ESCLARECIMENTOS E RECUSA EM PARTICIPAR

Você poderá tirar dúvidas e será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer aspecto necessário. Você é **livre para se recusar a participar**. Depois de aceitar participar, você também pode retirar o seu consentimento e interromper **sua participação a qualquer momento, sem nenhum prejuízo** em seu atendimento nos postos de saúde de Cruzeiro do Sul e no Hospital da Mulher e da Criança do Juruá.

Sua participação é voluntária, totalmente confidencial e não acarretará qualquer custo para você. Quando os dados coletados forem utilizados pela equipe de pesquisa neste estudo, os nomes dos participantes nunca serão revelados. Os dados ou o material biológico obtidos neste estudo poderão ser utilizados em outros projetos, com a devida aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu, _____,
 portadora da identidade _____, nascida em ____/____/_____, fui informada de maneira clara e detalhada sobre os objetivos da pesquisa “*Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo Longitudinal de Base Populacional*”. Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

1. receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;
2. retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
3. não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.

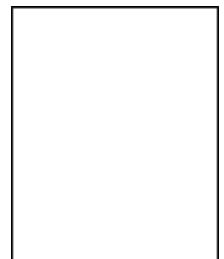
Declaro que concordo em participar desse estudo, que recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. **Em caso de dúvidas, poderei chamar a pesquisadora responsável Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso no telefone (11) 3061 7705 ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sito à Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César, São Paulo, SP, telefone (11) 3061 7779.**

Cruzeiro do Sul, ____/____/_____.

Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

Assinatura Da participante ou
Impressão do polegar direito

Pesquisador de campo: _____ Tel (68): _____



Anexo 4

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no seguimento do primeiro ano de vida do projeto de pesquisa Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo MINA-Brasil

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA

Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre:
Estudo Longitudinal de Base Populacional.
ESTUDO MINA 2017

Pesquisadora responsável: Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

OBJETIVOS E PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Este estudo tem por objetivo principal **estudar os fatores que influenciam a saúde e a nutrição de crianças de Cruzeiro do Sul desde o início de suas vidas, ainda no período da gestação**. Com as mudanças que observamos nas condições de saúde da nossa população, estudos com essa finalidade são importantes para identificar como prevenir o quanto antes a ocorrência de doenças e infecções, assim como o risco para deficiências nutricionais e distúrbios metabólicos, tanto em gestantes como em seus bebês.

A fase inicial de nosso estudo incluiu as seguintes etapas:

1

Primeiro, nossa equipe de pesquisa em parceria com agentes de saúde convidou gestantes e/ou parturientes a participar do estudo e a responder questionários inicial sobre a data de sua última menstruação e seus **dados socioeconômicos, demográficos e obstétricos**.

2

No **momento do parto no Hospital da Mulher e da Criança do Juruá**, nossa equipe registrou o **tipo de parto, idade gestacional, sexo, peso e comprimento do bebê**. Após o nascimento do bebê, foi obtida **amostra de sangue materna e do cordão umbilical** (cerca de 12 mL). Também foram coletadas informações sobre possíveis problemas que ocorreram na gestação e sobre qualquer dificuldade que a gestante tenha apresentado para enxergar claramente no período.

Na fase atual de seguimento dos bebês participantes do Estudo MINA, serão realizadas as seguintes etapas:

- 1 Avaliação de crescimento e desenvolvimento do bebê por equipe de pesquisadores treinados, incluindo medidas de peso e comprimento do bebê;
- 2 Coleta de sangue venoso (de 4 a 6 mL) para realização de hemograma completo, avaliação de reservas orgânicas de ferro, quantificação de vitaminas, marcadores inflamatórios, genéticos e diagnóstico de malária;
- 3 Coleta de pequena porção de amostras de fezes para avaliação de microbiota intestinal;
- 4 Avaliação de saúde bucal a ser realizada por odontopediatra para exame clínico de cárie dentária, desgaste dentário erosivo, defeitos de desenvolvimento dentário e maloclusões nos dentes do bebê.

BENEFÍCIOS E RISCOS EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Seu bebê terá avaliação nutricional gratuita por equipe especializada, com acesso **aos resultados de exames individuais**, que ficarão arquivados no seu prontuário nos postos de saúde. Sempre que necessário, a equipe de pesquisa fará encaminhamentos para atendimento médico ou odontológico especializado junto ao Programa de Saúde da Família do município de Cruzeiro do Sul.

O desconforto esperado com a participação neste estudo refere-se às entrevistas com perguntas de caráter pessoal, coleta de sangue venoso e exame odontológico que utilizará profissionais treinados e material descartável. Por isso, os riscos são mínimos e comparáveis a qualquer outra coleta de sangue em laboratórios de análises clínicas ou ao exame odontológico regular.

GARANTIAS, ESCLARECIMENTOS E RECUSA EM PARTICIPAR

Você poderá tirar dúvidas e será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer aspecto necessário. Você é **livre para se recusar a participar** em qualquer etapa da pesquisa. Você também pode retirar o seu consentimento e **interromper sua participação a qualquer momento, sem nenhum prejuízo** em seu atendimento nos postos de saúde de Cruzeiro do Sul.

Sua participação é voluntária, totalmente confidencial e não acarretará qualquer custo para você. Quando os dados coletados forem utilizados pela equipe de pesquisa neste estudo, os nomes dos participantes nunca serão revelados. Os dados ou o material biológico obtidos

neste estudo poderão ser utilizados em outros projetos, com a devida aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu,

_____, portador(a) da identidade _____, nascida em ___/___/_____, responsável pelo menor

_____, fui informada de maneira clara e detalhada sobre os objetivos da pesquisa “Saúde e Nutrição Materno-Infantil em Cruzeiro do Sul, Acre: Estudo Longitudinal de Base Populacional”. Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

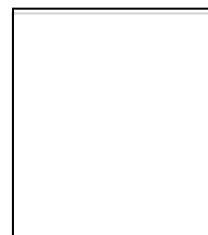
1. receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;
2. retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
3. não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.

Declaro que concordo em participar desse estudo, que recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. Em caso de dúvidas, poderei chamar a pesquisadora responsável Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso no telefone (11) 3061 7705 ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sito à Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César, São Paulo, SP, telefone (11) 3061 7863.

Cruzeiro do Sul, ___/___/_____.

Profa. Dra. Marly Augusto Cardoso

Assinatura da participante ou
Impressão do polegar direito



Pesquisador de campo: _____ Tel (68): _____

APÊNDICES

- Apêndice 1.** Tabela de análise bruta dos fatores maternos segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.
- Apêndice 2.** Tabela de análise bruta dos fatores ambientais segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.
- Apêndice 3.** Tabela de análise bruta dos fatores obstétricos e perinatais segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.
- Apêndice 4.** Tabela de análise bruta das práticas de aleitamento materno, uso de mamadeira e chupeta segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.
- Apêndice 5.** Tabela de análise bruta de morbidades e indicadores antropométricos infantis segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.
- Apêndice 6.** Tabela das variáveis selecionadas para análise de regressão linear múltipla segundo parâmetros de alfa diversidade da microbiota no primeiro ano de vida ($p < 0,20$).

Apêndice 1. Tabela de análise bruta dos fatores maternos segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.

| Variáveis | n | Número de OTU's | | | Shannon | | | Chao1 | | | Simpson | | |
|---------------------------|-----|-----------------|-------|--------------|---------|--------|--------------|--------|-------|--------------|---------|--------|--------------|
| | | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p |
| Idade (n=728) | | | | 0,027 | | | 0,014 | | | 0,114 | | | 0,017 |
| <19 anos | 121 | 230,99 | 68,12 | | 5,6195 | 0,6762 | | 329,69 | 88,39 | | 0,9526 | 0,0247 | |
| ≥19 anos | 607 | 218,23 | 66,13 | | 5,4703 | 0,6811 | | 319,09 | 88,14 | | 0,9468 | 0,0282 | |
| Cor da pele (n=718) | | | | 0,052 | | | 0,139 | | | 0,305 | | | 0,356 |
| Branca | 89 | 209,36 | 60,03 | | 5,4187 | 0,6340 | | 316,09 | 89,40 | | 0,9466 | 0,0281 | |
| Não branca | 629 | 221,65 | 67,61 | | 5,5025 | 0,6884 | | 321,21 | 88,49 | | 0,9478 | 0,0276 | |
| Índice de riqueza (n=718) | | | | 0,000 | | | 0,003 | | | 0,000 | | | 0,082 |
| 1° quartil | 146 | 232,79 | 64,14 | | 5,5681 | 0,6490 | | 340,77 | 80,84 | | 0,9502 | 0,0259 | |
| 2° quartil | 188 | 229,31 | 69,51 | | 5,5676 | 0,6901 | | 332,81 | 93,62 | | 0,9499 | 0,0272 | |
| 3° quartil | 188 | 222,24 | 63,63 | | 5,5131 | 0,6618 | | 320,56 | 83,58 | | 0,9477 | 0,0276 | |
| 4° quartil | 196 | 199,86 | 64,91 | | 5,3429 | 0,6980 | | 293,81 | 87,78 | | 0,9436 | 0,0292 | |
| Escolaridade (n=717) | | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 |
| ≤9 anos de estudo | 216 | 240,20 | 67,32 | | 5,6557 | 0,6622 | | 347,43 | 82,56 | | 0,9533 | 0,0255 | |
| >9 anos de estudo | 501 | 211,32 | 64,70 | | 5,4204 | 0,6790 | | 308,87 | 88,66 | | 0,9452 | 0,0282 | |
| Ocupação (n=718) | | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 |
| Remunerada | 243 | 206,95 | 68,16 | | 5,3639 | 0,7118 | | 298,88 | 89,79 | | 0,9428 | 0,0306 | |
| Não remunerada | 475 | 226,86 | 65,14 | | 5,5577 | 0,6574 | | 331,67 | 85,93 | | 0,9501 | 0,0257 | |

| | | | | | | | | | | |
|--|-----|--------|-------|--------------|--------|--------------|-------|--------------|--------|--------------|
| Beneficiária do Programa Bolsa Família (n=718) | | | | 0,000 | | 0,001 | | 0,000 | | 0,001 |
| Sim | 271 | 234,79 | 65,44 | 5,6142 | 0,6535 | 339,93 | 82,32 | 0,9520 | 0,0015 | |
| Não | 447 | 211,23 | 66,12 | 5,4181 | 0,6890 | 308,84 | 90,23 | 0,9451 | 0,0014 | |
| Morando com o companheiro (n=718) | | | | 0,011 | | 0,017 | | 0,031 | | 0,023 |
| Sim | 563 | 217,14 | 65,08 | 5,4639 | 0,6710 | 317,34 | 86,25 | 0,9466 | 0,0284 | |
| Não | 155 | 230,96 | 71,91 | 5,5945 | 0,7134 | 332,32 | 95,89 | 0,9516 | 0,0245 | |

Apêndice 2. Tabela de análise bruta dos fatores ambientais segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.

| Variáveis | n | Número de OTU's | | | Shannon | | | Chao1 | | | Simpson | | |
|--|-----|-----------------|-------|--------------|---------|--------|--------------|--------|-------|--------------|---------|--------|--------------|
| | | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p |
| Procedência da água de consumo (n=718) | | | | 0,000 | | | 0,004 | | | 0,003 | | | 0,007 |
| Rede de distribuição | 398 | 222,02 | 66,83 | | 5,5146 | 0,6818 | | 322,14 | 88,18 | | 0,9483 | 0,0278 | |
| Poço/cacimba/nascente | 241 | 223,50 | 67,18 | | 5,5064 | 0,6707 | | 325,58 | 90,37 | | 0,9486 | 0,0265 | |
| Rio/igarapé | 14 | 248,43 | 49,53 | | 5,8166 | 0,5471 | | 355,73 | 53,42 | | 0,9608 | 0,0143 | |
| Comprada/mineral | 65 | 189,89 | 60,75 | | 5,2314 | 0,6957 | | 284,88 | 82,21 | | 0,9377 | 0,0310 | |
| Descarte de lixo (n=718) | | | | 0,003 | | | 0,017 | | | 0,000 | | | 0,029 |
| Coletado | 628 | 217,51 | 66,72 | | 5,4717 | 0,6862 | | 316,49 | 88,08 | | 0,9469 | 0,0280 | |
| Destino impróprio | 90 | 238,37 | 64,80 | | 5,6342 | 0,6377 | | 349,09 | 87,11 | | 0,9528 | 0,0243 | |
| Destino do esgoto (n=718) | | | | 0,007 | | | 0,034 | | | 0,001 | | | 0,097 |
| Rede de esgoto ou fossa | 539 | 216,61 | 66,01 | | 5,4653 | 0,6699 | | 314,94 | 86,89 | | 0,9469 | 0,0272 | |
| Destino impróprio | 179 | 230,72 | 68,22 | | 5,5726 | 0,7130 | | 337,52 | 91,59 | | 0,9500 | 0,0288 | |
| Cachorro no domicílio (n=718) | | | | 0,243 | | | 0,415 | | | 0,348 | | | 0,442 |
| Sim | 396 | 218,56 | 63,99 | | 5,4871 | 0,6648 | | 319,41 | 87,09 | | 0,9475 | 0,0273 | |
| Não | 322 | 222,06 | 70,15 | | 5,4982 | 0,7036 | | 322,00 | 90,45 | | 0,9478 | 0,0281 | |
| Gato no domicílio (n=718) | | | | 0,169 | | | 0,039 | | | 0,100 | | | 0,020 |
| Sim | 192 | 224,08 | 63,67 | | 5,5660 | 0,6226 | | 327,58 | 82,16 | | 0,9512 | 0,0232 | |
| Não | 526 | 218,68 | 67,91 | | 5,4651 | 0,7011 | | 318,02 | 90,73 | | 0,9464 | 0,0290 | |

| | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----|--------|-------|--------------|--------|--------------|-------|--------------|--------|--------------|
| Horta no domicílio (n=718) | | | | 0,038 | | 0,170 | | 0,014 | | 0,201 |
| Sim | 235 | 226,45 | 68,89 | 5,5269 | 0,6592 | 330,98 | 93,23 | 0,9489 | 0,0264 | |
| Não | 483 | 217,05 | 65,61 | 5,4751 | 0,6929 | 315,51 | 85,85 | 0,9471 | 0,0283 | |
| Fumantes no domicílio (n=718) | | | | 0,000 | | 0,002 | | 0,000 | | 0,017 |
| Sim | 194 | 234,70 | 68,06 | 5,6155 | 0,6609 | 339,74 | 90,87 | 0,9513 | 0,0257 | |
| Não | 524 | 214,73 | 65,57 | 5,4464 | 0,6847 | 313,48 | 86,71 | 0,9463 | 0,0283 | |

Apêndice 3. Tabela de análise bruta dos fatores obstétricos e perinatais segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.

| Variáveis | n | Número de OTU's | | | Shannon | | | Chao1 | | | Simpson | | |
|--|-----|-----------------|-------|--------------|---------|--------|--------------|--------|-------|--------------|---------|--------|--------------|
| | | Média | DP | P | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p |
| Primiparidade (n=718) | | | | 0,003 | | | 0,059 | | | 0,001 | | | 0,107 |
| Sim | 305 | 212,26 | 66,39 | | 5,4456 | 0,7100 | | 308,40 | 89,50 | | 0,9462 | 0,0292 | |
| Não | 413 | 225,93 | 66,58 | | 5,5264 | 0,6594 | | 329,57 | 86,88 | | 0,9488 | 0,0265 | |
| Gestação planejada (n=718) | | | | 0,006 | | | 0,068 | | | 0,048 | | | 0,361 |
| Sim | 296 | 212,67 | 62,62 | | 5,4468 | 0,6329 | | 314,01 | 85,49 | | 0,9472 | 0,0269 | |
| Não | 422 | 225,36 | 69,18 | | 5,5238 | 0,7135 | | 325,18 | 90,47 | | 0,9480 | 0,0282 | |
| Número de consultas pré-natais (n=725) | | | | 0,061 | | | 0,042 | | | 0,097 | | | 0,303 |
| < 6 consultas | 133 | 228,11 | 71,64 | | 5,5828 | 0,6962 | | 329,35 | 90,98 | | 0,9479 | 0,0274 | |
| ≥ 6 consultas | 592 | 218,27 | 65,10 | | 5,4705 | 0,6754 | | 318,39 | 87,19 | | 0,9465 | 0,0291 | |
| Tipo de serviço pré-natal (n=726) | | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 |
| Público | 642 | 225,24 | 65,56 | | 5,5338 | 0,6707 | | 327,41 | 86,45 | | 0,9489 | 0,0274 | |
| Privado | 84 | 180,43 | 58,89 | | 5,1741 | 0,6728 | | 265,89 | 80,18 | | 0,9381 | 0,0288 | |
| IMC pré gestacional (n=691) | | | | 0,135 | | | 0,394 | | | 0,021 | | | 0,336 |
| Baixo peso/Eutrofia | 440 | 217,55 | 67,83 | | 5,4825 | 0,7095 | | 315,00 | 87,88 | | 0,9470 | 0,0290 | |
| Excesso de peso | 251 | 223,28 | 61,66 | | 5,4964 | 0,6248 | | 328,99 | 85,92 | | 0,9479 | 0,0261 | |

| | | | | | | | | | | |
|---|-----|--------|---------|--------------|--------|--------------|-------|--------------|--------|--------------|
| Ganho de peso gestacional (n=690) | | | | 0,455 | | 0,381 | | 0,722 | | 0,848 |
| Insuficiente | 204 | 222,13 | 65,21 | 5,4961 | 0,6882 | 318,73 | 84,79 | 0,9464 | 0,0283 | |
| Adequado | 247 | 221,58 | 67,04 | 5,5077 | 0,7038 | 323,17 | 89,50 | 0,9479 | 0,0298 | |
| Excessivo | 239 | 215,24 | 64,69 | 5,4549 | 0,6450 | 317,96 | 87,75 | 0,9474 | 0,0256 | |
| Suplementação com polinutrientes com vitamina A na gravidez (n=728) | | | | 0,000 | | 0,006 | | 0,001 | | 0,059 |
| Sim | 285 | 209,92 | 64,8281 | 5,4154 | 0,6597 | 308,39 | 88,29 | 0,9457 | 0,0283 | |
| Não | 443 | 227,04 | 66,9084 | 5,5462 | 0,6921 | 328,86 | 87,31 | 0,9490 | 0,0273 | |
| Suplementação de ácido fólico 5mg/dia na gravidez (n=728) | | | | 0,024 | | 0,127 | | 0,011 | | 0,228 |
| Sim | 503 | 216,99 | 65,79 | 5,4756 | 0,6787 | 315,65 | 87,02 | 0,9472 | 0,0275 | |
| Não | 225 | 227,48 | 67,85 | 5,5381 | 0,6907 | 331,80 | 89,58 | 0,9489 | 0,0283 | |
| Álcool na gestação (n=718) | | | | 0,124 | | 0,425 | | 0,069 | | 0,203 |
| Sim | 111 | 226,86 | 70,28 | 5,4809 | 0,6956 | 332,01 | 94,36 | 0,9457 | 0,0295 | |
| Não | 607 | 218,89 | 66,13 | 5,4941 | 0,6801 | 318,48 | 87,38 | 0,9480 | 0,0273 | |
| Prematuridade (n=728) | | | | 0,153 | | 0,113 | | 0,307 | | 0,183 |
| Sim | 58 | 211,78 | 66,65 | 5,3909 | 0,6820 | 315,24 | 95,19 | 0,9446 | 0,0269 | |
| Não | 670 | 221,09 | 66,58 | 5,5040 | 0,6819 | 321,34 | 87,63 | 0,9480 | 0,0278 | |
| Sexo da criança (n=728) | | | | 0,001 | | 0,004 | | 0,000 | | 0,025 |

| | | | | | | | | | |
|------------------------|-----|--------|-------|--------------|--------|--------------|-------|--------------|--------------|
| Feminino | 379 | 228,08 | 67,70 | 5,5580 | 0,6933 | 333,38 | 87,46 | 0,9497 | 0,0268 |
| Masculino | 349 | 211,93 | 64,40 | 5,4265 | 0,6640 | 307,22 | 87,11 | 0,9456 | 0,0285 |
| Tipo de parto (n=728) | | | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,003 |
| Vaginal | 378 | 229,74 | 68,09 | 5,5947 | 0,6905 | 332,33 | 85,00 | 0,9505 | 0,0279 |
| Cesárea | 350 | 210,17 | 63,45 | 5,3871 | 0,6570 | 308,44 | 90,03 | 0,9448 | 0,0272 |
| Peso ao nascer (n=728) | | | | 0,036 | | 0,057 | | 0,013 | 0,254 |
| <2500g | 48 | 203,44 | 71,06 | 5,3441 | 0,7119 | 293,38 | 95,91 | 0,9452 | 0,0260 |
| ≥2500g | 680 | 221,37 | 66,06 | 5,5051 | 0,6796 | 322,58 | 87,28 | 0,9479 | 0,0279 |

Apêndice 4. Tabela de análise bruta das práticas de aleitamento materno, uso de mamadeira e chupeta segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.

| Variáveis | n | Número de OTU's | | | Shannon | | | Chao1 | | | Simpson | | |
|---|-----|-----------------|-------|--------------|---------|--------|--------------|--------|-------|--------------|---------|--------|--------------|
| | | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p |
| Aleitamento materno na 1º hora de vida (n=688) | | | | 0,038 | | | 0,063 | | | 0,060 | | | 0,264 |
| Sim | 616 | 221,55 | 66,60 | | 5,5057 | 0,6849 | | 322,16 | 86,79 | | 0,9479 | 0,0282 | |
| Não | 72 | 206,86 | 62,36 | | 5,3762 | 0,6428 | | 305,23 | 93,75 | | 0,9457 | 0,0251 | |
| Aleitamento materno exclusivo (n=728) | | | | 0,182 | | | 0,204 | | | 0,123 | | | 0,149 |
| <30 dias | 409 | 224,37 | 68,54 | | 5,5341 | 0,6839 | | 318,87 | 77,86 | | 0,9494 | 0,0270 | |
| 31 - 90 dias | 105 | 215,64 | 59,52 | | 5,4561 | 0,6531 | | 315,68 | 75,19 | | 0,9470 | 0,0262 | |
| >90 dias | 214 | 214,98 | 65,98 | | 5,4379 | 0,6918 | | 312,23 | 87,72 | | 0,9449 | 0,0296 | |
| Aleitamento materno predominante (n=723) | | | | 0,000 | | | 0,001 | | | 0,000 | | | 0,005 |
| <90 dias | 164 | 237,80 | 63,80 | | 5,4501 | 0,6965 | | 314,44 | 88,28 | | 0,9526 | 0,0235 | |
| ≥90 dias | 559 | 215,33 | 66,67 | | 5,6450 | 0,6187 | | 342,76 | 84,56 | | 0,9462 | 0,0288 | |
| Aleitamento materno ao primeiro ano de vida (n=728) | | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,000 | | | 0,117 |
| Sim | 504 | 212,92 | 65,51 | | 5,4369 | 0,6791 | | 312,64 | 87,82 | | 0,9487 | 0,0278 | |
| Não | 224 | 237,08 | 66,09 | | 5,6324 | 0,6721 | | 339,38 | 86,44 | | 0,9462 | 0,0276 | |
| Uso de mamadeira ao primeiro ano de vida (n=728) | | | | 0,000 | | | 0,006 | | | 0,003 | | | 0,233 |

| | | | | | | | | | |
|--|-----|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------|
| Sim | 457 | 227,17 | 66,67 | 5,5437 | 0,6843 | 327,63 | 88,77 | 0,9491 | 0,0265 |
| Não | 271 | 208,81 | 64,95 | 5,4128 | 0,6718 | 309,41 | 86,20 | 0,9473 | 0,0280 |
| Uso de chupeta ao primeiro ano de vida (n=728) | | | 0,006 | | 0,049 | | 0,020 | | 0,264 |
| Sim | 162 | 231,88 | 65,92 | 5,5732 | 0,6868 | 333,38 | 86,42 | 0,9479 | 0,0282 |
| Não | 566 | 217,05 | 66,46 | 5,4727 | 0,6797 | 317,28 | 88,46 | 0,9457 | 0,0251 |

Apêndice 5. Tabela de análise bruta de morbididades e indicadores antropométricos infantis segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida.

| Variáveis | n | Número de OTU's | | | Shannon | | | Chao1 | | | Simpson | | |
|---|-----|-----------------|-------|-------|---------|--------|-------|--------|--------|-------|---------|--------|--------------|
| | | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p | Média | DP | p |
| Malária desde o nascimento (n=728) | | | | 0,313 | | | 0,294 | | | 0,255 | | | 0,150 |
| Sim | 19 | 227,50 | 78,67 | | 5,5767 | 0,7233 | | 333,66 | 91,19 | | 0,9541 | 0,0211 | |
| Não | 709 | 220,14 | 66,27 | | 5,4927 | 0,6813 | | 320,50 | 88,16 | | 0,9476 | 0,0279 | |
| Dengue desde o nascimento (n=728) | | | | 0,508 | | | 0,067 | | | 0,454 | | | 0,042 |
| Sim | 21 | 220,64 | 71,10 | | 5,7093 | 0,6045 | | 323,01 | 96,84 | | 0,9578 | 0,0194 | |
| Não | 707 | 220,34 | 66,49 | | 5,4884 | 0,6837 | | 320,79 | 88,00 | | 0,9474 | 0,0279 | |
| Pneumonia desde o nascimento (n=728) | | | | 0,358 | | | 0,314 | | | 0,277 | | | 0,257 |
| Sim | 24 | 215,60 | 62,68 | | 5,5601 | 0,6967 | | 331,13 | 110,83 | | 0,9513 | 0,0271 | |
| Não | 704 | 220,51 | 66,76 | | 5,4927 | 0,6820 | | 320,49 | 87,37 | | 0,9476 | 0,0277 | |
| Doenças infecciosas desde o nascimento (n=728) | | | | 0,419 | | | 0,118 | | | 0,300 | | | 0,035 |
| Sim | 64 | 218,74 | 69,59 | | 5,5909 | 0,6640 | | 326,31 | 98,52 | | 0,9537 | 0,0229 | |
| Não | 664 | 220,50 | 66,34 | | 5,4857 | 0,6836 | | 320,32 | 87,19 | | 0,9472 | 0,0281 | |
| Vermes desde o nascimento (n=728) | | | | 0,088 | | | 0,127 | | | 0,206 | | | 0,337 |
| Sim | 23 | 238,42 | 64,61 | | 5,6512 | 0,6366 | | 335,42 | 93,56 | | 0,9501 | 0,0345 | |

| | | | | | | | | | |
|---|-----|--------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------------|
| Não | 705 | 219,73 | 66,61 | 5,4897 | 0,6834 | 320,36 | 88,05 | 0,9477 | 0,0275 |
| Diarreia nos últimos 15 dias (n=728) | | | | 0,373 | | 0,331 | | 0,434 | 0,246 |
| Sim | 215 | 221,58 | 68,93 | 5,5120 | 0,6923 | 321,70 | 86,22 | 0,9488 | 0,0273 |
| Não | 513 | 219,82 | 65,64 | 5,4879 | 0,6783 | 320,50 | 89,11 | 0,9473 | 0,0279 |
| Deficiência de ferro (n=616) | | | | 0,051 | | 0,065 | | 0,051 | 0,284 |
| Sim | 241 | 216,19 | 68,75 | 5,4583 | 0,6717 | 314,92 | 90,94 | 0,9476 | 0,0264 |
| Não | 375 | 225,20 | 65,46 | 5,5423 | 0,6710 | 326,89 | 87,33 | 0,9489 | 0,0277 |
| Insuficiência de vitamina D (n=507) | | | | 0,019 | | 0,096 | | 0,041 | 0,391 |
| Sim | 180 | 213,08 | 66,86 | 5,4557 | 0,6956 | 312,94 | 92,48 | 0,9501 | 0,0159 |
| Não | 327 | 225,91 | 66,64 | 5,5372 | 0,6586 | 327,30 | 87,21 | 0,9483 | 0,0274 |
| Baixa estatura para idade (n=728) | | | | 0,416 | | 0,324 | | 0,452 | 0,195 |
| Sim | 16 | 216,94 | 74,39 | 5,5697 | 0,7771 | 323,39 | 94,75 | 0,9534 | 0,0241 |
| Não | 712 | 220,43 | 66,44 | 5,4933 | 0,6802 | 320,80 | 88,11 | 0,9476 | 0,0278 |
| Baixo peso para idade (n=728) | | | | 0,444 | | 0,188 | | 0,411 | 0,193 |
| Sim | 6 | 216,86 | 103,50 | 5,2680 | 0,9109 | 313,38 | 129,83 | 0,9387 | 0,0405 |
| Não | 722 | 220,38 | 66,24 | 5,4973 | 0,6800 | 320,93 | 87,83 | 0,9478 | 0,0276 |
| IMC excessivo para idade (n=728) | | | | 0,008 | | 0,013 | | 0,012 | 0,095 |

| | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-----|--------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
| Sim | 46 | 197,53 | 60,72 | 5,2808 | 0,6370 | 292,83 | 85,91 | 0,9426 | 0,0261 |
| Não | 682 | 221,92 | 66,72 | 5,5098 | 0,6831 | 322,79 | 88,09 | 0,9481 | 0,0278 |
| Desenvolvimento infantil (n=703) | | | | 0,101 | | 0,404 | | 0,146 | 0,455 |
| Adequado | 495 | 218,63 | 66,49 | 5,4937 | 0,6879 | 318,66 | 88,55 | 0,9480 | 0,0276 |
| Suspeita de atraso | 208 | 225,66 | 67,45 | 5,5074 | 0,6643 | 326,34 | 87,42 | 0,9478 | 0,0269 |

Apêndice 6. Tabela das variáveis selecionadas para análise de regressão linear múltipla segundo parâmetros de alfa-diversidade da microbiota no primeiro ano de vida ($p < 0,20$).

| Variáveis | Número de OTU's | Shannon | Chao1 | Simpson |
|--|-----------------|---------|-------|---------|
| Bloco distal | | | | |
| Idade materna | X | X | X | X |
| Cor da pele | X | X | | |
| Índice de riqueza | X | X | X | X |
| Escolaridade (n=716) | X | X | X | X |
| Ocupação remunerada da mãe | X | X | X | X |
| Beneficiária do Programa Bolsa Família | X | X | X | X |
| Morar com o companheiro | X | X | X | X |
| Procedência da água de consumo | X | | X | X |
| Descarte do lixo | X | X | X | X |
| Destino do esgoto | X | X | X | X |
| Gato no domicílio | X | X | X | X |
| Horta no domicílio | X | X | X | |
| Fumantes no domicílio | X | X | X | X |
| Bloco intermediário | | | | |
| Primiparidade | X | X | X | X |
| Gestação planejada | X | X | X | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Tipo de serviço pré-natal | X | X | X | X |
| Número de consultas no pré-natal | X | X | X | |
| IMC pré-gestacional | X | | X | |
| Ganho de peso gestacional | | | | |
| Suplementação com polinutrientes com vitamina A na gestação | X | X | X | X |
| Suplementação com ferro na gestação | X | | X | |
| Suplementação com ácido fólico na gestação | X | X | X | |
| Consumo de álcool na gestação | X | | X | |
| Sexo da criança | X | X | X | X |
| Tipo de parto | X | X | X | X |
| Peso ao nascer | X | X | X | |
| Prematuridade | X | X | | X |
| Bloco proximal | | | | |
| Hora dourada | X | X | X | |
| Aleitamento materno exclusivo | | | X | X |
| Aleitamento predominante | X | X | X | X |
| Aleitamento ao primeiro ano de vida | X | X | X | X |
| Uso de mamadeira | X | X | X | |
| Uso de chupeta | X | X | X | |
| Malária | | | | X |

| | | | | | |
|------------------------------|---|--|---|---|---|
| Dengue | | | X | | X |
| Doenças infecciosas | | | X | | X |
| Vermes/parasitas intestinais | X | | X | | |
| Deficiência de ferro | X | | X | X | |
| Insuficiência de vitamina D | X | | X | X | |
| IMC excessivo | X | | X | X | X |
| Baixa estatura para idade | | | | | X |
| Baixo peso para idade | | | X | | X |
| Desenvolvimento infantil | X | | | X | |
