

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO EMÍLIA DE JESUS FERREIRO  
CURSO DE NUTRIÇÃO

MARIANA MOREIRA CLAUDINO

**Efeito da suplementação com probióticos sobre o pH fecal de  
pacientes em hemodiálise**

Niterói - RJ  
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO EMÍLIA DE JESUS FERREIRO  
CURSO DE NUTRIÇÃO

MARIANA MOREIRA CLAUDINO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS SOBRE O pH  
FECAL DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Nutrição da Universidade Federal  
Fluminense como requisito parcial  
para a obtenção do Grau de Bacharel  
em Nutrição.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Mafra  
Co-orientador: MsC. Natália Alvarenga Borges

Niterói - RJ  
2016

C615 Claudino, Mariana Moreira

Efeito da suplementação com probióticos sobre o pH fecal de pacientes em hemodiálise / Mariana Moreira Claudino; orientador: Denise Mafra, coorientador: Natália Alvarenga Borges – Niterói: [s.n.], 2016.

40 f.: il.

Inclui gráficos e tabelas

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal Fluminense, 2016.

Bibliografia: f. 28-33

1.Diálise renal 2.Probióticos 3.Microbiota intestinal  
I.Mafra, Denise [orien.] II.Borges, Natália Alvarenga [coorien.]  
III.Título

CDD 616.614

MARIANA MOREIRA CLAUDINO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS SOBRE O pH  
FECAL DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Nutrição da Universidade Federal  
Fluminense como requisito parcial  
para a obtenção do Grau de Bacharel  
em Nutrição.

Aprovado em: 29/07/2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

MsC. Natália Alvarenga Borges – Co-orientador  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Sílvia Custódio  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Juliana Saraiva dos Anjos  
Universidade Federal Fluminense

Niterói - RJ  
2016

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família pelo incentivo e apoio incondicional.

A esta universidade e seu corpo docente, que permitiram o meu aprendizado e crescimento profissional.

À minha orientadora Denise pelo incentivo e amor à pesquisa servindo de exemplo, e à minha co-orientadora Natália pela sua dedicação, apoio e paciência.

E a todos que, de alguma forma, fizeram parte da minha formação, muito obrigada.

**Efeito da suplementação com probióticos sobre o pH fecal de  
pacientes em hemodiálise**

**Effect of probiotic supplementation on fecal pH in hemodialysis patients**

Mariana Moreira Claudino<sup>1</sup>, Natália Alvarenga Borges<sup>2</sup>, Denise Mafra<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Nutrição, Niterói-RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas (UFF), Niterói-RJ, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares (UFF), Niterói-RJ, Brasil.

**Autor para Correspondência:** Mariana Moreira Claudino

Endereço: Rua Benjamin Constant, 26 bl 5/301 Santana – Niterói-RJ (Brasil).

CEP: 24110-002

Telefone: (21) 98565-2050

E-mail: marianaclaudino@id.uff.br

**Título abreviado:** Probióticos e pH fecal na DRC.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A microbiota intestinal desempenha importante papel na proteção à invasão de patógenos, além de ser responsável pelo controle do pH intestinal, fundamental para a manutenção da saúde. Pacientes com doença renal crônica (DRC) comumente apresentam disbiose e, a modulação da microbiota com uso de probióticos poderia beneficiar esses pacientes.

**OBJETIVO:** Avaliar o efeito da suplementação com probióticos sobre o pH fecal de pacientes renais crônicos em hemodiálise (HD).

**MÉTODOS:** Nesse estudo randomizado, duplo cego, com placebo, 46 pacientes com DRC em HD foram recrutados para receber suplementação com probióticos (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria longum*) ou placebo durante 3 meses. Amostras de fezes foram colhidas e analisado o pH fecal antes e após a suplementação. Foram avaliados também os níveis de marcadores inflamatórios, exames bioquímicos, ingestão alimentar e antropometria.

**RESULTADOS:** Após suplementação com probiótico, houve redução significativa do pH fecal (de  $7,2 \pm 0,8$  para  $6,7 \pm 0,7$ ) e aumento nos níveis de ureia (de  $146,3 \pm 41,4$  para  $173,0 \pm 48,8$  mg/dL), o que não foi observado no grupo placebo. Não houve diferença significativa na ingestão de energia e proteína entre os grupos.

**CONCLUSÃO:** O presente estudo sugere que a suplementação com probióticos pode reduzir os níveis de pH fecal dos pacientes em HD, podendo ser benéfica, uma vez que ambientes mais ácidos estão possivelmente associados a uma

menor geração de toxinas urêmicas. Mais estudos são necessários para investigar outros efeitos da suplementação com probióticos nesses pacientes.

**Palavras-chave:** Diálise Renal, Probióticos, Microbiota Intestinal.



## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** The gut microbiota plays an important role in protecting the host, including controlling the intestinal pH. Chronic kidney disease (CKD) patients often present dysbiosis and, modulation of the gut microbiota could be a good strategy to diminish this dysbiosis.

**OBJECTIVE:** To evaluate the effect of probiotic supplementation on fecal pH in CKD patients on hemodialysis (HD).

**METHODS:** In this randomized, double-blind, placebo, 46 CKD patients on HD were recruited to receive supplementation with probiotics (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria longum*) or placebo for 3 months. Stool specimens were collected and analyzed before and after supplementation. Inflammatory markers plasma levels, biochemical tests, as well as food intake and anthropometry were also evaluated.

**RESULTS:** After probiotic supplementation, there was significant reduction in fecal pH ( $7.2 \pm 0.8$  to  $6.7 \pm 0.7$ ) and increase in urea plasma levels ( $146.3 \pm 41.4$  to  $173.0 \pm 48,8$  mg/dL), which was not observed in the placebo group. There was no significant difference in energy intake and protein in both groups.

**CONCLUSION:** The present study suggests that supplementation with probiotics can reduce fecal pH levels in HD patients, and may be beneficial, since more acidic environments are possibly associated with a lower generation of uremic toxins. More studies are needed to investigate other effects of probiotic supplementation in these patients.

**Key Words:** Renal Dialysis, Probiotics, Intestinal Microbiota.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
2.1 Critérios de inclusão e não-inclusão.....	13
2.2 Intervenção .....	14
2.3 Avaliação do Estado Nutricional.....	14
2.4 Análise da ingestão alimentar .....	16
2.5 Coleta de sangue e análises bioquímicas .....	16
2.6 Determinação de marcadores inflamatórios.....	16
2.7 Coleta e análises de espécimes (fezes).....	17
2.8 Análise Estatística.....	17
3. RESULTADOS .....	18
4. DISCUSSÃO.....	22
5. CONCLUSÃO .....	26
6. AGRADECIMENTOS.....	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
8. ANEXO .....	34

## 1. INTRODUÇÃO

Pacientes com doença renal crônica (DRC), principalmente os que estão em tratamento dialítico, apresentam elevada atividade inflamatória, que está associada a diversas complicações. Espécies reativas de oxigênio (EROs), produtos de retenção urêmica, infecções, obesidade, substâncias vasoativas e doenças cardiovasculares<sup>1,2</sup>, estão entre os fatores capazes de iniciar uma cascata de eventos pró-inflamatórios nesses pacientes. Mais recentemente, um novo fator tem sido relacionado com a inflamação crônica em pacientes com DRC: o desequilíbrio da microbiota intestinal<sup>3,4</sup>.

A composição da microbiota varia ao longo do trato gastrointestinal, no entanto, diversas espécies de microrganismos tem sido observadas e estudadas no cólon distal. Em humanos, a população de microrganismos é estimada em  $10^{13}$  e  $10^{14}$  nas fezes<sup>5</sup>. Grande parte da microbiota intestinal é formada por bactérias gram-positivas do filo Firmicutes (*Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Ruminococcus*) ou bactérias gram-negativas do filo Bacteroides (*Bacteroides* e *Prevotella*). Alguns fatores como idade, dieta, antibioticoterapia e doenças inflamatórias podem alterar a composição da microbiota intestinal<sup>5,6</sup>.

Os componentes não digeríveis da dieta chegam ao cólon e são degradados pelas bactérias residentes. Inicialmente os carboidratos complexos que não foram digeridos ao longo do trato gastrointestinal (polissacarídeos e amido resistente) são degradados em monossacarídeos e oligossacarídeos e posteriormente são fermentados, gerando hidrogênio, dióxido de carbono, etanol e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC - acetato, propionato, butirato e lactato)<sup>7</sup>.

Quando em simbiose, a microbiota intestinal desempenha papel benéfico na proteção contra a invasão por microrganismos patogênicos, além de facilitar a absorção de carboidratos, produção de aminoácidos e micronutrientes, como as vitaminas do complexo B<sup>1,4</sup>. Os AGCC produzidos pela microbiota residente são essenciais para a manutenção da integridade da barreira intestinal, uma vez que são fontes de energia para os colonócitos, atuando assim na manutenção do trofismo intestinal<sup>8</sup>. Além disso, a atividade fermentativa dessa microbiota residente exerce relevante papel no controle do pH intestinal<sup>8</sup>, que deve estar dentro de uma faixa adequada (5,7 – 6,7)<sup>9</sup> pois proporciona condições favoráveis para que as enzimas executem com eficiência o processo de digestão dos alimentos e, é essencial na manutenção da simbiose<sup>10</sup>.

Pacientes com DRC frequentemente são aconselhados a restringir o consumo de frutas e vegetais, a fim de evitar hipercalemia, o que leva a menor ingestão dos carboidratos complexos não digeríveis e, conseqüentemente, menor produção de AGCC devido à escassez de substrato<sup>11</sup>. Paralelamente, o acúmulo de ureia e outras toxinas urêmicas nos fluidos corporais aumenta o afluxo de tais substâncias para o trato gastrointestinal, favorecendo o crescimento de bactérias que expressam urease e enzimas formadoras de indol e p-cresil<sup>3</sup>. Através de reações químicas, a ureia é convertida em amônia, que é então convertida em hidróxido de amônio, elevando o pH do lúmen intestinal. A elevação do pH intestinal exacerba os sinais de inflamação através do influxo de leucócitos e produção local de citocinas, culminando na endocitose de proteínas transmembranares, o que acarreta danos na mucosa intestinal<sup>3,12</sup>.

A disbiose e as alterações na barreira intestinal nos pacientes com DRC podem levar à maior geração de toxinas urêmicas pelas bactérias que passam a predominar na microbiota intestinal e, à maior difusão ou translocação dessas e de outras substâncias do lúmen intestinal para a corrente sanguínea, contribuindo assim de maneira relevante no desenvolvimento da inflamação sistêmica característica dos pacientes com DRC<sup>3,12</sup>.

Diante do papel da microbiota intestinal no quadro de inflamação sistêmica de pacientes com DRC, estratégias terapêuticas como a utilização de probióticos podem representar alternativa de intervenção na busca do reestabelecimento da simbiose intestinal.

Os probióticos são definidos pela Organização de Alimentação e Agricultura (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como "microrganismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro"<sup>13,14</sup>. Entre os benefícios dos probióticos, a imunomodulação e suas propriedades anti-inflamatórias têm sido bastante estudados. Possuem aplicações clínicas já consolidadas no tratamento ou prevenção de diversas doenças, no entanto, no campo da nefrologia tem sido pouco explorado<sup>15</sup>.

O mecanismo de ação dos probióticos envolve: (1) formação de barreira física no epitélio intestinal contra a entrada de bactérias patogênicas e (2) formação de muco, sendo assim responsável pela manutenção da integridade da mucosa intestinal; (3) síntese de compostos antimicrobianos, como bacteriocinas e (4) redução do pH do lúmen intestinal através da formação de ácidos<sup>14</sup>.

Assim, considerando o papel dos probióticos na manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com probióticos sobre o pH fecal de pacientes renais crônicos em hemodiálise (HD).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, onde foram selecionados pacientes em HD da clínica Renal Vida/RJ para receberem suplemento composto por probiótico ou placebo. Todos os pacientes foram previamente informados sobre a utilização do material biológico para realização do trabalho e participaram como voluntários, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFF sob o número 083/11. Dados demográficos, clínicos e bioquímicos de rotina foram obtidos por análise do prontuário médico, por entrevista ou coleta de material biológico (sangue e fezes).

### **2.1 Critérios de inclusão e não-inclusão**

Foram incluídos no estudo pacientes do sexo masculino e feminino com DRC em HD, com idade entre 18 e 75 anos e que possuíam fístula arteriovenosa (FAV) como acesso vascular. Não foram incluídos, gestantes, pacientes com doenças auto-imunes, infecciosas, neoplásicas e AIDS; pacientes em uso de drogas catabolizantes, suplementos pré, pró ou simbióticos e antibióticos nos últimos 3 meses antes do início deste estudo.

## 2.2 Intervenção

O suplemento utilizado no grupo tratamento continha uma combinação de três cepas de bactérias gram-positivas probióticas encapsuladas: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria longum*. Cada cápsula possuía 30 bilhões de unidades formadoras de colônias (UFC). A posologia consistiu na ingestão de 3 cápsulas ao dia, uma após o café da manhã, uma após o almoço e outra após o jantar (totalizando  $90 \cdot 10^9$  UFC/dia), durante 3 meses. O placebo foi acondicionado em frascos idênticos ao dos probióticos. A alocação dos pacientes para o grupo tratamento ou grupo placebo foi realizada por um estatístico não envolvido diretamente na pesquisa e não foi revelada aos pesquisadores antes das análises dos dados.

Durante o período de intervenção, todos os pacientes foram acompanhados por uma nutricionista envolvida na pesquisa para certificar a adesão ao estudo e registrar possíveis sintomas. A adesão foi avaliada através da monitorização da quantidade de comprimidos devolvidos. Após 3 meses de intervenção, a coleta de dados realizada no início do estudo foi repetida.

## 2.3 Avaliação do Estado Nutricional

O estado nutricional foi avaliado por meio de parâmetros antropométricos (peso corporal, estatura, circunferência do braço e dobras cutâneas). Todas as aferições foram realizadas após a sessão de HD e foi utilizado o adipômetro do tipo *Lange Skinfold Caliper (Cambridge Scientific Industries Inc.)*.



O índice de massa corporal (IMC) foi obtido pela razão entre o peso e o quadrado da estatura, e sua classificação seguiu o proposto pela Organização Mundial de Saúde<sup>16,17</sup>.

Para avaliação da reserva de tecido muscular foi calculada a área muscular do braço corrigida (AMBc) e para avaliação da reserva adiposa, foi calculado o Percentual de Gordura Corporal (%GC). Nesta técnica, a composição corporal é estimada utilizando-se a somatória de quatro pregas cutâneas: bicipital, tricipital, subescapular e supra-iliaca. Após a aferição das pregas, seu somatório seguiu o proposto na equação de Durnin e Womersely<sup>18</sup> para o cálculo da Densidade Corporal (DC). A partir dos valores de DC, a porcentagem de gordura corporal total foi determinada utilizando a fórmula de Siri<sup>19</sup>. Os valores de referência para classificação do %GC foram os pontos de corte propostos por Lohman<sup>20</sup>, como mostra a tabela a seguir:

**Tabela 1.** Classificação do risco de morbidades segundo o percentual de gordura corporal (%GC).

<b>Classificação</b>	<b>Gordura corporal (%)</b>	
	<b>Homem</b>	<b>Mulher</b>
Riscos de doenças associadas	≤ 5	≤ 8
Abaixo da média	6 - 14	9 - 22
Média	15	23
Acima da média	16 - 24	24 - 31
Riscos de doenças associadas	≥ 25	≥ 32

Fonte: Lohman, 1991.

## 2.4 Análise da ingestão alimentar

A ingestão diária de energia, macronutrientes e fibras foi estimada a partir do recordatório alimentar de 24 horas (R-24h) de três dias diferentes, sendo um dia de diálise, um dia sem diálise e outro de final de semana. A média da ingestão foi calculada através de software de avaliação dietética NutWin®-UNIFESP. A ingestão diária de calorias e proteínas foi normalizada para o peso dos pacientes. A composição de nutrientes dos alimentos não inclusos neste software foi obtida a partir da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos<sup>21</sup>.

## 2.5 Coleta de sangue e análises bioquímicas

Amostras de sangue foram obtidas no período da manhã, estando os pacientes em jejum de 12 horas. O sangue foi coletado em tubos *Vacutainer*® contendo EDTA como anticoagulante (1mg/mL). Em seguida, parte do sangue coletado foi centrifugado a 3500 rpm por 15 minutos, a 4°C, para a obtenção do plasma. O plasma foi acondicionado em tubos *ependorfs* de polipropileno de 1,5mL, e conservado a -80°C para posteriores análises.

## 2.6 Determinação de marcadores inflamatórios

Para dosagem da PCR ultra-sensível, foi utilizado o *kit DuoSet*® ELISA *development system* - R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA). Os níveis plasmáticos de lipopolissarídeos (LPS) foram determinados através do kit

comercial *ELISA Kit for Lipopolysaccharides LPS®* (Uscn Life Science Inc, Wuhan, China). Exames bioquímicos de rotina também foram analisados através da análise dos prontuários dos pacientes.

## **2.7 Coleta e análises de espécimes (fezes)**

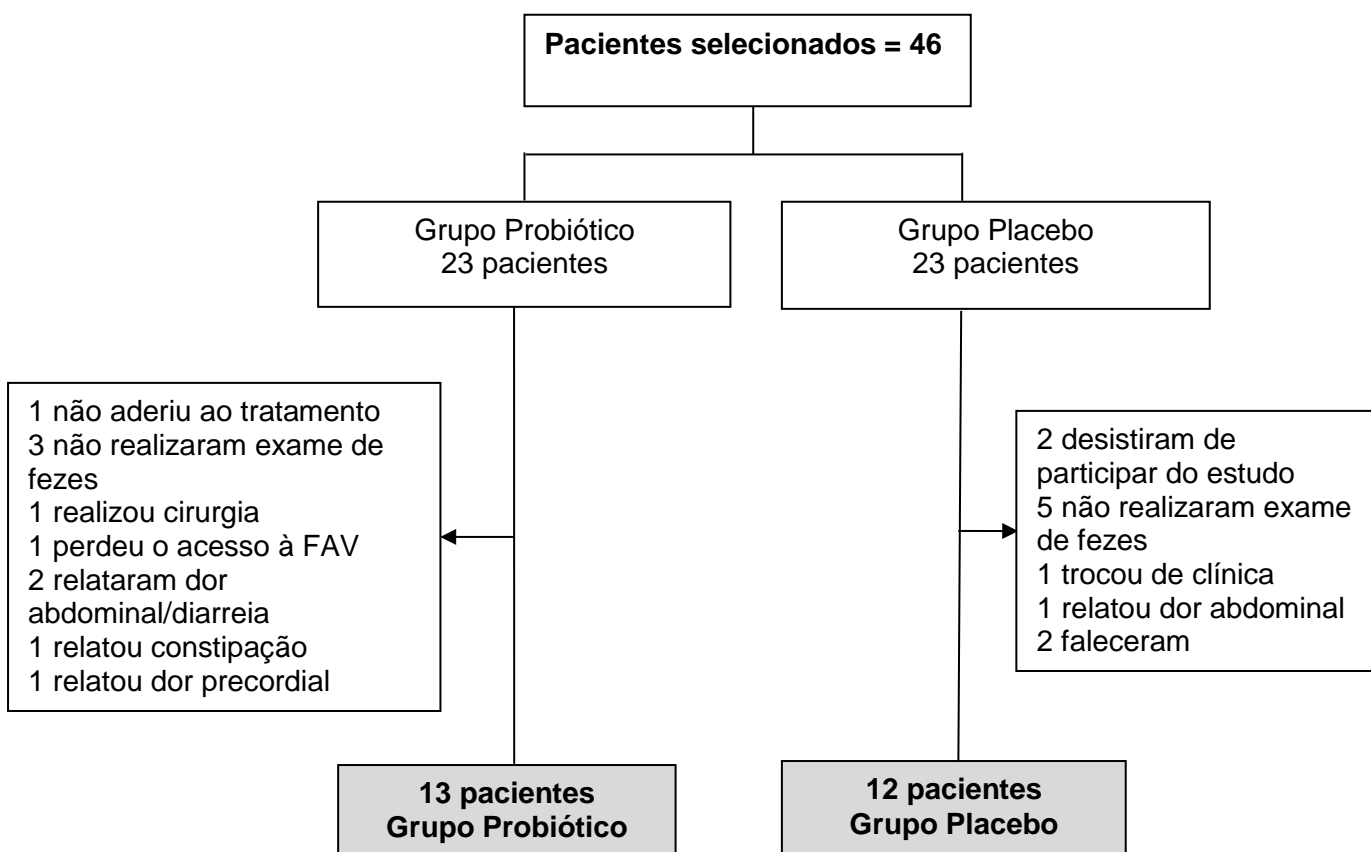
As espécimes foram coletadas nos mesmos dias da coleta do sangue e transportadas ao laboratório acondicionadas em frascos plásticos e condições térmicas apropriados. Logo após, cada amostra foi homogeneizada e procedeu-se a medição do pH fecal que foi mensurado com o auxílio de um peagâmetro de acordo com o método padrão.

## **2.8 Análise Estatística**

O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para testar a distribuição das variáveis, sendo os resultados expressos como média  $\pm$  DP (desvio-padrão), mediana (distância interquartílica) ou percentual, conforme adequado. Foi utilizado Teste-t pareado ou teste de *Wilcoxon* para avaliar a diferença nas variáveis de interesse em decorrência da intervenção, e o Teste t-*Student* ou *Mann-Whitney* para a comparação entre os grupos. O coeficiente de correlação de *Pearson* ou *Spearman* foi considerado para avaliar a correlação entre as variáveis. Os testes serão fixados com valores de confiança em 95% ( $p < 0,05$ ), sendo considerados significativos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS (19.0).

### 3. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 46 pacientes em programa regular de HD, com tempo de tratamento dialítico de 47,5 (28,5 - 72,0) meses. Do total de pacientes, 25 completaram o período de intervenção, sendo 13 pacientes do grupo probiótico e 12 pacientes pertencentes ao grupo placebo. Desistiram do estudo por diversos motivos 10 pacientes do grupo probiótico e 11 do grupo placebo, como mostra a Figura 1. Os pacientes receberam orientação dietética hipossódica com a prescrição de 1,2 g a 1,4 g de proteína/kg/dia e de 30 a 35 kcal/kg/dia, de acordo com suas necessidades.



**Figura 1.** Fluxograma do Estudo.

A Tabela 2 apresenta as características gerais dos pacientes estudados. Não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos (placebo e probióticos) em relação às variáveis avaliadas, caracterizando homogeneidade intergrupo.

**Tabela 2.** Características gerais basais dos grupos probiótico e placebo compostos por pacientes renais crônicos em hemodiálise.

	<b>Pacientes renais crônicos em HD</b>	
	<b>Probiótico (n=13)</b>	<b>Placebo (n=12)</b>
Idade (anos)	55,9 ± 12,0	52,6 ± 9,4
Gênero (Homem/Mulher)	4/9	5/7
Tempo em HD (meses)	65,0 (52,0 – 117,0)	38,0 (19,0 – 96,0)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,2 ± 3,6	25,0 ± 4,0
GC (%)	28,9 ± 7,4	31,6 ± 5,8
AMBc (cm <sup>2</sup> )	40,5 ± 6,4	45,2 ± 9,7

HD: Hemodiálise; IMC: Índice de Massa Corporal; GC: Gordura Corporal; AMBc: Área Muscular do Braço Corrigida.

O principal fator etiológico da DRC nos pacientes do estudo foi nefroesclerose hipertensiva (48%), seguido de nefroesclerose diabética (16%). Em relação ao perfil antropométrico da amostra estudada, de acordo com o IMC, a maioria dos indivíduos do grupo probiótico (46%) apresentou eutrofia, 31% tinham sobrepeso e 23% obesidade. Em relação ao grupo placebo, 54,5% eram eutróficos e 45,5% tinham sobrepeso. Nenhum paciente estava desnutrido.

Com relação ao %GC, no grupo probiótico 31% estavam acima da média e 23% apresentou obesidade; e no grupo placebo, 44% apresentou obesidade e 11% estavam acima da média. Com relação à reserva muscular, 77% dos

indivíduos do grupo probiótico e 89% dos indivíduos do grupo placebo estavam dentro da faixa de normalidade, segundo a AMBc.

Os valores médios de energia, macronutrientes e fibras de ambos os grupos, avaliados no *baseline*, encontram-se na Tabela 3. Todos os pacientes avaliados apresentaram ingestão energética inferior à recomendação diária para manutenção de peso (30 kcal/kg a 35kcal/kg). Nenhum paciente alcançou a recomendação proteica para indivíduos em HD (1,2 a 1,4g/kg/dia). A ingestão de fibras dos pacientes de ambos os grupos esteve abaixo das recomendações diárias (25 a 30g/dia), segundo a *American Dietetic Association*<sup>22</sup>.

**Tabela 3.** Ingestão de energia, macronutrientes e fibras.

<b>Parâmetros</b>	<b>Probiótico (n=13)</b>	<b>Placebo (n=12)</b>
Energia (Kcal/Kg/dia)	20,6 ± 5,4	19,8 ± 4,0
Proteína (g/Kg/dia)	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,3
Lipídio (g/dia)	31,3 ± 10,0	27,6 ± 12,7
Carboidrato (g/dia)	170,7 ± 49,0	168,6 ± 96,7
Fibras totais (g/dia)	12,1 ± 4,0	11,8 ± 3,9

A Tabela 4 mostra os parâmetros bioquímicos e marcadores inflamatórios de ambos os grupos estudados no momento inicial do estudo (*baseline*) e após 3 meses de suplementação com probiótico ou placebo. No grupo de suplementação com probiótico, houve aumento significativo nos níveis plasmáticos de ureia pré-HD e redução significativa do pH fecal. Não houve nenhuma diferença significativa no grupo placebo. Não houve correlação entre pH fecal e as demais variáveis.

**Tabela 4.** Parâmetros bioquímicos e marcadores inflamatórios: efeitos da suplementação com probióticos ou placebo.

Parâmetros	Probiótico (n=13)		Placebo (n=12)	
	Baseline	Após	Baseline	Após
Ureia pré-HD (mg/dL)	146,3 ± 41,4	173,0 ± 48,8*	163,0 ± 35,7	163,0 ± 38,9
Ureia pós-HD (mg/dL)	49,8 ± 20,3	49,2 ± 21,3	53,2 ± 13,5	52,5 ± 16,0
Creatinina (mg/dL)	9,7 ± 4,5	12,3 ± 4,1	13 ± 2,8	10,5 ± 0,1
Albumina (g/dL)	4,1 ± 0,3	4,2 ± 0,2	4,2 ± 0,2	4,1 ± 0,3
Globulina (g/dL)	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,4	3,2 ± 0,5	2,7 ± 0,2
PCR (mg/dL)	3,48 (1,6 - 11,3)	5,5 (2,9 - 12,9)	3,3 (1,0 - 4,0)	1,7 (0,6 - 4,6)
LPS (ng/mL)	16,9 (8,5 - 21,8)	16,5 (9,9 - 17,5)	32,4 (12,0 - 67,3)	27,1 (19,0 - 49,1)
pH fecal	7,2 ± 0,8	6,7 ± 0,7*	6,8 ± 0,8	6,5 ± 0,6

\*Diferença intra grupo p<0,05.

#### 4. DISCUSSÃO

O desequilíbrio na composição da microbiota intestinal presente nos pacientes com DRC pode surgir como consequência da uremia e também tornar-se causa do agravamento da inflamação já presente nos pacientes com DRC. O uso de probióticos como terapia renal adjuvante vem sendo sugerido por alguns pesquisadores, no entanto, na nefrologia, esta linha de pesquisa ainda é carente de informações concretas<sup>23,24</sup>. No presente estudo, foi possível observar que a suplementação oral com probióticos a curto prazo promoveu redução significativa nos níveis médios de pH fecal de pacientes renais crônicos em HD. Essa redução no pH deve-se possivelmente à geração de produtos ácidos, como os AGCC e ácido lático, pelas bactérias após a suplementação com probióticos.

Estudo conduzido por Tejero-Sariñena *et al.* (2012) analisou o efeito antimicrobiano dos probióticos *in vitro* e observou que quanto menor o pH, maior a inibição a bactérias patogênicas e correlacionou este fato à capacidade de produção de ácidos orgânicos pelos probióticos<sup>25</sup>. Em outro estudo, Bull-Otterson *et al.* (2013) suplementaram probióticos em ratos afim de avaliar a disbiose na patogênese da doença hepática alcóolica e, foi observado que o pH fecal dos ratos reduziu significativamente após a intervenção<sup>26</sup>. O pH ácido intestinal é importante, uma vez que o aumento do pH tem sido associado a diversas alterações, como diarreia e cirrose hepática<sup>27,28</sup>.

Os probióticos também têm sido alvo de pesquisas como coadjuvantes no tratamento de outras doenças relacionadas ao trato gastrointestinal, como doenças inflamatórias intestinais, colite e doença de *Crohn*<sup>29,30</sup>, infecções



bacterianas por *Helicobacter pylori*<sup>31</sup> e diarreia associada ao uso de antibióticos<sup>32</sup>. Os mecanismos protetores que os probióticos podem exercer incluem: inibição da adesão de agentes patógenos nas mucosas, melhoria da função de barreira epitelial intestinal, modulação do sistema imune, competição por nutrientes e redução do pH do lúmen intestinal através da produção de AGCC<sup>33,27</sup>.

Estudos demonstram que há, de fato, alterações na microbiota intestinal de pacientes com DRC. Hida *et al.* (1996) analisaram a microbiota de pacientes em HD e quantitativamente não foi observada diferença significativa, entretanto, observou-se aumento de bactérias aeróbicas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus*) e *Clostridium perfringens*, bactéria anaeróbica, e diminuição de bactérias anaeróbicas intestinais (como as do gênero Bifidobactérias), evidenciando aumento de espécies patogênicas e redução de espécies consideradas benéficas para o hospedeiro<sup>34</sup>.

Em outro estudo, Wang *et al.* (2012) detectaram pela técnica *PCR Real Time* que os gêneros Bifidobactérias e Lactobacilos estavam presentes em menor proporção nas amostras de pacientes submetidos a diálise peritoneal quando comparado a indivíduos saudáveis<sup>35</sup>. Vaziri *et al.* (2013) constataram pela técnica de DNA “*microarray*” diferença em 190 unidades taxonômicas bacterianas entre indivíduos saudáveis e pacientes com DRC em HD e além disso, os pacientes apresentaram espécies bacterianas potencialmente patogênicas<sup>36</sup>.

A partir destas evidências previamente descritas na literatura, acredita-se que a modulação da microbiota intestinal possa trazer benefícios para os

pacientes com DRC, principalmente na fase dialítica, na qual os sintomas da uremia encontram-se exacerbados.

Ranganathan *et al.* (2014) avaliaram o efeito da suplementação de probióticos em pacientes com DRC durante 6 meses em estudo randomizado, duplo cego, crossover e controlado por placebo e observaram redução no nível da toxina urêmica indoxil glicuronídeo e da inflamação, através da redução dos níveis de proteína C reativa (PCR)<sup>24</sup>. No entanto, este estudo não avaliou o nível do pH fecal dos pacientes em HD que foram suplementados com probióticos.

No presente estudo, a suplementação com probióticos teve impacto benéfico ao reduzir os níveis de pH fecal dos pacientes em HD, uma vez que a acidificação do ambiente intestinal pode estar associada à produção de AGCC por meio do favorecimento das bactérias com atividade fermentativa promovido pelos probióticos. Tais fatores podem trazer benefícios para os pacientes com DRC, favorecendo o equilíbrio da microbiota e a integridade da barreira intestinal. Estudos mostram que a redução do pH intestinal pode estar associada à menores níveis de toxinas urêmicas<sup>11</sup>. Isto ocorre pelo aumento de bactérias formadoras de AGCC, que são responsáveis pela manutenção da integridade da barreira intestinal e, paralelamente, a presença destas bactérias também pode reduzir o crescimento das espécies bacterianas que possuem a urease, o que conseqüentemente diminui a formação de hidróxido de amônio, responsável por ocasionar o dano na barreira epitelial e exacerbar a DRC<sup>11,3,12</sup>.

Em contrapartida, os níveis de ureia aumentaram significativamente após a suplementação com probióticos. Isto contradiz a hipótese de que os probióticos poderiam melhorar a inflamação presente nos pacientes com DRC através da

diminuição dos produtos de retenção urêmica, demonstrada por alguns autores<sup>37,38</sup>. Recentemente, Vaziri *et al.* (2015) constataram que a comunidade microbiana sofre alterações estruturais e funcionais na uremia devido à combinação de mudanças no ambiente bioquímico e biofísico<sup>7</sup>. E também, a orientação de dietas restritas em frutas e vegetais e o excesso de medicamentos são fatores agravantes para a restauração da microbiota saudável<sup>7</sup>.

Pode-se considerar como fator limitante do presente estudo o pequeno número amostral que pode ter restringido o aparecimento de associações. Além disso, não foram avaliados os níveis de toxinas urêmicas plasmáticas, bem como a produção de AGCC, o que nos daria suporte para conclusões mais específicas.

Segundo a ANVISA, a dose mínima viável de probióticos deve ser entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC diária, valores inferiores podem ser usados, desde que comprovada sua eficácia<sup>39</sup>. Sendo assim, não há recomendação específica de dose/tempo para o tratamento com probióticos. Em pacientes com DRC em HD, o uso de probióticos ainda não está bem documentado na literatura e os estudos que existem apresentam resultados contraditórios<sup>40</sup>.

## 5. CONCLUSÃO

A suplementação com probióticos promoveu redução significativa do pH fecal de pacientes com DRC em HD. No entanto, é necessário que mais investigações sejam realizadas afim de comprovar a eficácia do uso de probióticos em pacientes renais analisando outros parâmetros, como os efeitos sobre os níveis das toxinas urêmicas e marcadores inflamatórios mais específicos.

## **6. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Clínica Renal Vida autorizar a participação dos pacientes nesta pesquisa; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vanholder R, Fouque D, Glorieux G, Heine GH, Kanbay M, Mallamaci F, *et al.* Clinical management of the uraemic syndrome in chronic kidney disease. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4(4):360-73.
2. Tsuruya K, Eriguchi M, Yamada S, Hirakata H, Kitazono T. Cardiorenal Syndrome in end-stage kidney disease. *Blood Purif* 2015;40:337-43.
3. Wong J, Piceno YM, De Santis TZ, Pahl M, Andersen GL, Varizi ND. Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short chain fatty acid-producing intestinal microbiota in ESRD. *Am J Nephrol* 2014;39(3):230–7.
4. Mafra D, Fouque D. Gut microbiota and inflammation in chronic kidney disease patients. *Clin Kidney J* 2015;8:332–4.
5. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr* 2014; 111(3):387-402.
6. Musso G, Gambino R, Cassader M. Interactions Between Gut Microbiota and Host Metabolism Predisposing to Obesity and Diabetes. *Annu Rev Med* 2011, 62:361–80.
7. Vaziri N, Zhao Y-Y, Pahl MV. Altered intestinal microbial flora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2015;0:1–10.
8. Zhang Y, Li S, Gan RY, Zhou T, Xu DP, Li HB. Impacts of Gut Bacteria on Human Health and Diseases. *Int J Mol Sci* 2015;16:7493-519.

9. Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan Med Bull* 1999;46(3):183-96.
10. Zimmer J, Lange B, Frick JS, Sauer H, Zimmermann K, Schwiertz A, *et al.* A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur J Clin Nutr* 2012;66:53–60.
11. Vaziri ND, Liu S-M, Lau WL, Khazaeli M, Nazertehrani S, Farzaneh SH, *et al.* High Amylose Resistant Starch Diet Ameliorates Oxidative Stress, Inflammation, and Progression of Chronic Kidney Disease. *Plos one* 2014;9(12):e114881. doi:10.1371/journal.pone.0114881.
12. Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Nephron* 2015;130:92-8.
13. FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Basel, Switzerland: World Health Organization 2001.
14. Koppe L, Mafra D, Fouque D. Probiotics and chronic kidney disease. *Kidney Int* 2015;88(5):958-66.
15. Medina M, Izquierdo E, Ennahar S, Sanz Y. Differential immunomodulatory properties of Bifidobacterium logum strains: relevance to probiotic selection and clinical applications. *Clin Exp Immunol* 2007;150(3):531-8.
16. OMS, 1995. In: cuppari I. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar. Unifesp/ EPM, Nutrição. São Paulo: Manole; 2005. p. 92.
17. OMS, 1997. In: cuppari I. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar. Unifesp/ EPM, Nutrição. São Paulo: Manole; 2005. p. 92.

18. Kamimura MA, Baxmann A, Sampaio LR and Cuppari L. Avaliação nutricional. In: Cuppari L. Guias de Medicina ambulatorial e hospitalar. UNIFESP/Escola Paulista de Medicina, Nutrição. 2. ed. São Paulo: Manole; 2005.p.89-127.
19. Siri WE. Body composition from fluid space and density. In: Brozek J, Hanschel A, eds. Techniques for measuring body composition. *Natl Acad Sci* 1961;223-4.
20. Lohman TG, Roche AF, Wilmore JH. Anthropometric standardization reference manual. Abridged edition, 1991; p. 90.
21. TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 4. ed. 2011. p. 161.
22. American Dietetic Association. Health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 2002;102:993-1000.
23. Ranganathan N, Pechenyak B, Vyas U, Ranganathan P, Weinberg A, Liang P, Mallappallil MC, *et al.* Randomized Controlled Trial of Strain-Specific Probiotic Formulation (Renadyl) in Dialysis Patients. *Biomed Res Int* 2014, 568571, 9.
24. Rossi M, Johnson DW, Campbell KL. The Kidney-Gut Axis: Implications for Nutrition Care. *J Ren Nutr* 2015;25(5):399-403.
25. Tejero-Sariñena S, Barlowb J, Costabile A, Gibson GR, Rowland I. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe* 2012;18:530-8.



26. Bull-Otterson L, Feng W, Kirpich I, Wang Y, Qin X, Liu Y, *et al.* Metagenomic analyses of alcohol induced pathogenic alterations in the intestinal microbiome and the effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG treatment. *Plos one*. 2013;8(1):e53028.doi: 10.1371/journal.pone.0053028.
27. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr* 2001;73:399–405.
28. Zhao HY, Wang HJ, Lu Z, Xu SZ. Intestinal microflora in patients with liver cirrhosis. *Chin J Dig Dis* 2004;5:64–7.
29. Matsumoto S, Hara T, Hori T, Mitsuyama K, Nagaoka M, Tomiyasu N, *et al.* Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2005;140(3):417-26.
30. Scanlan PD, Shanahan F, O'Mahony C, Marchesi JR. Culture-independent analyses of temporal variation of the dominant fecal microbiota and targeted bacterial subgroups in Crohn's disease. *J Clin Microbiol* 2006;44(11):3980-8.
31. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, *et al.* A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14(12):1625-9.
32. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C, *et al.* Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007;335:80.

33. FAO/WHO. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. *Nutrition paper*. 2006.
34. Hida M, Aiba Y, Sawamura S, Suzuki N, Satoh T, Koga Y. Inhibition of the accumulation of uremic toxins in the blood and their precursors in the feces after oral administration of Lebenin, a lactic acid bacteria preparation, to uremic patients undergoing hemodialysis. *Nephron* 1996;74:349–55.
35. Wang I-K, Lai H-C, Yu C-J, Liang CC, Chang CT, Kuo HL, *et al*. Real-Time PCR Analysis of the Intestinal Microbiotas in Peritoneal Dialysis Patients. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(4):1107-12.
36. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, De Santis TZ, *et al*. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int* 2013;83:308–15.
37. Prakash S, Chang TM. Microencapsulated genetically engineered live E. coli DH5 cells administered orally to maintain normal plasma urea level in uremic rats. *Nat Med* 1996;2:883–7.
38. Alatríste PVM, Arronte RU, Espinosa COG, Cuevas ME. Effect of probiotics on human blood urea levels in patients with chronic renal failure. *Nutr Hosp* 2014;29:582–90.
39. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (Brasil). Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em julho de 2008. IX-Lista das Alegações Aprovadas.
40. Ranganathan N, Ranganathan P, Friedman EA, Joseph A, Delano B, Goldfarb DS, *et al*. Pilot study of probiotic dietary supplementation for

promoting healthy kidney function in patients with chronic kidney disease. *Adv Ther* 2010;27:634–47.

## 8. ANEXO

### Normas da Revista

**Artigo enviado:** *Brazilian Journal of Nephrology* (ISSN 2175-8239)

**Disponível em:** <http://www.scielo.br/revistas/jbn/pinstruc.htm>

### Forma e Preparação de Manuscritos

#### Artigos Originais

Apresentam resultados inéditos de pesquisa, constituindo trabalhos completos que contêm todas as informações relevantes para o leitor que deseja repetir o trabalho do autor ou avaliar seus resultados e conclusões. Os artigos podem conter até 5.000 palavras. A sua estrutura formal deve apresentar os tópicos Introdução, Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões. O uso de subtítulos é recomendado particularmente na discussão do artigo. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Sugere-se, quando apropriado, o detalhamento do tópico "Método", informando o desenho do estudo, o local onde foi realizado, os participantes do estudo, os desfechos clínicos de interesse e a intervenção. Para esses artigos, deve-se apresentar um resumo contendo Introdução, Objetivo(s), Métodos, Resultado(s) e Conclusão(ões).

#### Preparo do manuscrito

**Página de identificação:** devem constar da primeira página: a) Título do artigo, que deve ser conciso e completo, descrevendo o assunto a que se refere (palavras supérfluas devem ser omitidas). Deve-se apresentar a versão do título

para o inglês; b) nome dos autores; c) instituição e/ou setor da instituição a que cada autor está filiado, acompanhada dos respectivos endereços (títulos pessoais e cargos ocupados não deverão ser indicados); d) nome do departamento e/ou da instituição onde o trabalho foi realizado; e) indicação do autor responsável pela correspondência; f) se o trabalho tiver sido subvencionado, deve-se indicar o nome da agência de fomento que concedeu o subsídio; g) se tiver sido baseado em uma tese acadêmica, deve-se indicar o título, ano e a instituição em que foi apresentada; h) se tiver sido apresentado em reunião científica, deve-se indicar o nome do evento, o local e a data da realização.

**Resumo e descritores:** os artigos originais, comunicações breves, artigos de revisão e artigos de atualização, escritos em português, devem conter, na segunda página, o resumo em português e em inglês. Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para resumos, que deverão ser estruturados). Os resumos estruturados devem apresentar, no início de cada parágrafo, o nome das subdivisões que compõem a estrutura formal do artigo (Introdução, Método, Resultados, Discussão e Conclusões). Os descritores (palavras-chave), expressões que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de 3 a 10, fornecidos pelo autor, baseando-se no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela Bireme, que é uma tradução do MeSH (*Medical Subject Headings*) da *National Library of Medicine* e disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>. Devem ser apresentados em português e em inglês.

**Texto:** deverá obedecer à estrutura exigida para cada categoria de artigo. Citações no texto e as referências citadas nas legendas das tabelas e das figuras devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto, com algarismos arábicos (números-índices). As referências devem ser citadas no texto sem parênteses, em expoente, conforme o exemplo: Referências<sup>1</sup>.

**Tabelas:** cada tabela deve ser enviada em um arquivo separado.

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente, com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e encabeçadas por um título apropriado. Devem ser citadas no texto, sem duplicação de informação. As tabelas, com seus títulos e rodapés, devem ser autoexplicativas. Tabelas provenientes de outras fontes devem citar as referências originais no rodapé.

**Figuras e gráficos:** as ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos etc.) devem ser enviadas individualmente, em formato JPG (em alta resolução - 300 dpi). Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e serem suficientemente claras para permitir sua reprodução. As legendas para as figuras deverão constar em arquivo separado. Não serão aceitas fotocópias. Se houver figuras extraídas de outros trabalhos previamente publicados, os autores devem providenciar a permissão, por escrito, para a sua reprodução. Esta autorização deve acompanhar os manuscritos submetidos à publicação.

**Análise estatística:** os autores devem demonstrar que os procedimentos estatísticos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (p. ex,  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) devem ser mencionados.

**Abreviações:** as abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Em seguida, não se deve repetir o nome por extenso.

**Nome de medicamentos:** deve-se usar o nome genérico.

**Havendo citação de aparelhos/equipamentos:** todos os aparelhos/equipamentos citados devem incluir modelo, nome do fabricante, estado e país de fabricação.

**Agradecimentos:** devem incluir a colaboração de pessoas, grupos ou instituições que mereçam reconhecimento, mas que não tenham justificadas suas inclusões como autoras; agradecimentos por apoio financeiro, auxílio técnico, etc. Devem vir antes das referências bibliográficas.

**Referências:** devem ser numeradas consecutivamente, na mesma ordem em que foram citadas no texto e identificadas com algarismos arábicos. A apresentação deverá estar baseada no formato denominado "*Vancouver Style*", conforme exemplos abaixo, e os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela *List of Journal Indexed in Index Medicus*, da *National Library of Medicine* e disponibilizados no endereço: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas citados no texto ou em nota de rodapé.

**Lista de verificação para envio de artigos**

Antes de encaminhar seus artigos para publicação no Jornal Brasileiro de Nefrologia, os autores devem verificar se o material encaminhado obedece às seguintes condições:

***Autores***

- ( ) São apresentados nome e sobrenome dos autores.
- ( ) São apresentadas as instituições às quais cada autor é vinculado.
- ( ) carta de apresentação atende os requisitos éticos (assinada por todos os autores, menciona conflitos de interesse existentes, citadas as fontes de apoio ou financiamento etc.).

***Título***

- ( ) É apresentado em português, em inglês e título resumido.

***Modalidade***

- ( ) É apresentada a modalidade do artigo (original, revisão, relato de caso, atualização e outros)

***Resumo***

- ( ) É estruturado e contém até 250 palavras (artigo original e comentário breve).
- ( ) Contém até 150 palavras (artigo de atualização e de revisão).
- ( ) É apresentado em português e em inglês (exceto carta e relato de caso).

***Descritores (palavras-chave)***

- ( ) Integram o vocabulário do Decs (Bireme-Lilacs).
- ( ) Estão apresentados em português e em inglês.



### **Referências**

- ( ) Seguem as normas do Grupo de Vancouver (Ex: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.
- ( ) São numeradas na ordem em que aparecem no texto.
- ( ) São identificadas por algarismos arábicos, sobrescritos. Ex: "conforme atesta Johnson<sup>1</sup>".
- ( ) Obedecem, preferencialmente, ao limite de 40 para artigos originais, 15 para comunicações breves, 15 para relatos de caso, 80 para artigos de revisão e 40 para artigos de atualização.

### **Apresentação**

- ( ) Em sua versão eletrônica, o trabalho está redigido em um único arquivo de texto em formato .doc ou .rtf (Microsoft Word).
- ( ) As tabelas e figuras não ultrapassam, em conjunto, o limite máximo de seis unidades.
- ( ) Em sua versão eletrônica, as tabelas são apresentadas em formato .doc (Microsoft Word) ou .xls (Microsoft Excel).
- ( ) Em sua versão eletrônica, as ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos etc.) devem ser enviadas individualmente, em formato .jpg (em alta resolução - 300 dpi).

### **Requisitos técnicos**

#### **Devem ser enviados:**

- a) arquivo word (.doc ou .rtf), digitado em espaço duplo, fonte tamanho 12, margem de 3 cm de cada lado, com páginas numeradas em algarismos arábicos,

iniciando-se cada seção em uma nova página, consecutivamente: página de título, resumo e descritores, texto, agradecimentos, referências, tabelas e legendas - excluem-se imagens, que devem ser enviadas em formato jpg ou tiff;

b) permissão para reprodução do material;

c) aprovação do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizado o trabalho, quando referente a intervenções (diagnósticas ou terapêuticas) em seres humanos;

d) carta assinada por todos os autores no termo em que se afirme o ineditismo do trabalho. A ausência de assinatura será interpretada como desinteresse ou desaprovação da publicação, determinando a exclusão editorial do nome dessa pessoa da relação de autores;

e) endereço completo do autor correspondente.