

## Lactobacilli and bifidobacteria in the feces of schoolchildren of two different socioeconomic groups: children from a favela and children from a private school

*Lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de crianças escolares de dois estratos socioeconômicos: moradores em uma favela e alunos de uma escola particular*

Ricardo M. P. de Mello<sup>1</sup>, Mauro B. de Moraes<sup>2</sup>, Soraia Tahan<sup>3</sup>, Lígia C. F. L. Melli<sup>4</sup>,  
Mirian S. do Carmo Rodrigues<sup>4</sup>, Carolina S. Mello<sup>5</sup>, Isabel C. A. Scaletsky<sup>6</sup>

### Resumo

**Objetivo:** Determinar o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de crianças escolares, pertencentes a dois estratos socioeconômicos.

**Métodos:** Foram analisadas amostras de fezes de crianças com idade entre 6 e 10 anos sem sintomas gastrointestinais ou uso recente de antimicrobianos. O primeiro grupo foi constituído por 86 crianças, moradoras em uma favela localizada no município de Osasco (SP). O segundo grupo foi constituído por 36 crianças matriculadas em uma escola particular da mesma cidade. O estado nutricional foi avaliado usando o índice de massa corporal (IMC) de acordo com os valores de referência do National Center for Health Statistics (NCHS). O isolamento das colônias foi realizado em meios de cultura específicos em anaerobiose, durante 48 e 72 horas a 37 °C. A determinação do número foi feita pelo método da contagem em placa.

**Resultados:** A mediana de lactobacilos ( $1,125 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia, UFC/g) e bifidobactérias ( $1,675 \times 10^9$  UFC/g) na escola particular foi superior ( $p < 0,001$ ) ao do grupo da favela:  $0,250 \times 10^9$  e  $0,350 \times 10^9$  UFC/g, respectivamente. No grupo da favela, crianças com escore z de IMC  $< -1,0$  desvio padrão ( $n = 28$ ) apresentaram menor mediana ( $p < 0,05$ ) de lactobacilos ( $0,100 \times 10^9$  UFC/g) e bifidobactérias ( $0,095 \times 10^9$  UFC/g) em relação às crianças com IMC  $\geq -1,0$  desvio padrão ( $n = 57$ ):  $0,350 \times 10^9$  e  $0,420 \times 10^9$  UFC/g, respectivamente.

**Conclusão:** A microbiota de crianças escolares que moram em condições ambientais desfavoráveis apresenta menor número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes, especialmente naquelas com menores valores do IMC.

*J Pediatr (Rio J). 2009;85(4):307-314: Lactobacillus, bifidobacterium, fatores socioeconômicos, estado nutricional, exposição ambiental, enteropatias.*

### Abstract

**Objective:** To determine the number of lactobacillus and bifidobacterium colonies in the feces of schoolchildren from two different socioeconomic levels.

**Methods:** We analyzed fecal samples of children aged 6 to 10 years without gastrointestinal symptoms or recent use of antimicrobials. The first group included 86 children living in a favela in the city of Osasco, state of São Paulo, southeastern Brazil. The second group included 36 children attending a private school in the same city. Body mass index (BMI) was used to assess nutritional status according to the reference values of the National Center for Health Statistics (NCHS). Specific anaerobic culture media were used for isolation of colonies for 48 and 72 hours at 37 °C. The number of colonies was determined using the plate-counting method.

**Results:** The mean lactobacillus ( $1.125 \times 10^9$  colony-forming units, CFU/g) and bifidobacterium ( $1.675 \times 10^9$  CFU/g) counts in the private school group were higher ( $p < 0.001$ ) than those in the favela group:  $0.250 \times 10^9$  and  $0.350 \times 10^9$  CFU/g, respectively. In the favela group, children with BMI z score  $< -1.0$  standard deviation (SD) ( $n = 28$ ) showed lower mean ( $p < 0.05$ ) lactobacillus ( $0.100 \times 10^9$  CFU/g) and bifidobacterium ( $0.095 \times 10^9$  CFU/g) counts than the children with BMI  $\geq -1.0$  SD ( $n = 57$ ):  $0.350 \times 10^9$  and  $0.420 \times 10^9$  CFU/g, respectively.

**Conclusion:** The microbiota of schoolchildren living in unfavorable environmental conditions shows lower numbers of fecal lactobacillus and bifidobacterium colonies, especially in children with lower BMI values.

*J Pediatr (Rio J). 2009;85(4):307-314: Lactobacillus, bifidobacterium, socioeconomic factors, nutritional status, environmental exposure, enteropathies.*

1. Biomédico. Mestre, Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria, Disciplina de Gastroenterologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP.
2. Professor associado, livre-docente e chefe, Disciplina de Gastroenterologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, UNIFESP, São Paulo, SP.
3. Médica. Doutora, Disciplina de Gastroenterologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, UNIFESP, São Paulo, SP. Professora, Instituto de Pesquisa Unolab, Departamento de Ciências da Saúde, Centro Universitário Fundação e Instituto de Educação de Osasco (UNIFIEO), Osasco, SP. Professora, Instituto de Pesquisa Unolab, Departamento de Ciências da Saúde, UNIFIEO, Osasco, SP.
4. Professora, Instituto de Pesquisa Unolab, Departamento de Ciências da Saúde, UNIFIEO, Osasco, SP.
5. Nutricionista. Mestre, Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria, Disciplina de Gastroenterologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, UNIFESP, São Paulo, SP.
6. Professora adjunta, livre-docente, Disciplina de Microbiologia, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UNIFESP, São Paulo, SP.

Este estudo foi realizado no laboratório da Disciplina de Microbiologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia e Disciplina de Gastroenterologia Pediátrica do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

**Como citar este artigo:** de Mello RM, de Moraes MB, Tahan S, Melli LC, Rodrigues MS, Mello CS, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in the feces of schoolchildren of two different socioeconomic groups: children from a favela and children from a private school. *J Pediatr (Rio J)*. 2009;85(4):307-314.

Artigo submetido em 15.01.09, aceito em 15.04.09.

doi:10.2223/JPED.1904

## Introdução

Lactobacilos e bifidobactérias são microorganismos da microbiota intestinal, conhecidos pelos seus efeitos benéficos para a saúde humana, sendo chamadas de bactérias probióticas. As bactérias probióticas colonizam predominantemente o cólon, mas podem apresentar efeitos benéficos não somente no intestino grosso como também no intestino delgado e em outras partes do organismo, incluindo efeitos sistêmicos mediados pelo sistema imunológico<sup>1,2</sup>. Colonizam em maior número o cólon de lactentes alimentados exclusivamente com leite materno<sup>3-5</sup>. Esse ponto é de grande importância, considerando que a composição da microbiota colônica tende a ser estável durante toda a vida, sendo definida nos primeiros meses de vida. Outro ponto fundamental para a composição da microbiota colônica é o tipo de parto (vaginal ou por cesárea)<sup>1-6</sup> que representa a primeira influência do ambiente na composição da microbiota intestinal. Em fases posteriores da vida, a exposição às condições ambientais inadequadas pode ocasionar a enteropatia tropical (ambiental). A enteropatia tropical pode ser definida como atrofia subclínica difusa das vilosidades do intestino delgado, associada com infiltração inflamatória por células T<sup>7-9</sup>. Na enteropatia tropical pode ocorrer, também, crescimento excessivo de bactérias no intestino delgado proximal e alterações de testes indicadores da função enteral refletindo a lesão das vilosidades<sup>10</sup>. Por sua vez, em áreas com risco de enteropatia ambiental podem ser encontrados enteropatógenos nas fezes de crianças, mesmo quando elas não apresentam diarreia<sup>11</sup>. Em tal contexto não foram encontrados estudos que avaliem a participação dos lactobacilos e bifidobactérias na composição da microbiota intestinal em áreas propícias para o desenvolvimento da enteropatia ambiental. Estudos<sup>12,13</sup> realizados na década de 1970, envolvendo pequeno número de crianças com desnutrição, demonstraram mudanças na microbiota colônica ao longo da terapia nutricional.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de crianças escolares pertencentes a dois estratos socioeconômicos, sendo um deles constituído em uma favela, local propício para a ocorrência de enteropatia ambiental. O número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias foi relacionado, ainda, com o peso e a estatura e com a presença ou não de *Escherichia coli* diarreiogênicas nas fezes.

## Métodos

### Casuística

Este é um estudo transversal realizado entre agosto de 2006 e setembro de 2007. Foram analisadas amostras de fezes de 122 crianças: 86 moradoras em uma favela e 36 matriculadas em uma escola particular. Como estratégia, pretendeu-se obter dois grupos pertencentes a dois estratos socioeconômicos diferentes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM), tendo sido obtida a assinatura para o termo de consentimento livre e esclarecido dos pais ou responsáveis.

Como critério de inclusão para ambos os grupos exigiu-se: idade entre 6 e 10 anos e ausência de diarreia há mais de 30 dias. Como critérios de exclusão considerou-se: utilização de antibióticos nos últimos 15 dias ou presença de evidências clínicas de doenças graves como cardiopatia, nefropatia, doença hepática crônica, imunodeficiências, neuropatia crônica ou hospitalização nos últimos meses.

O primeiro grupo foi formado em uma favela popularmente chamada Morro do Socó, localizada no bairro Portal D'Oeste, periferia do município de Osasco (SP). As moradias localizam-se em terreno íngreme e de difícil acesso, próximas a um aterro sanitário. As crianças foram selecionadas para constituir amostra representativa dessa população. Sortearam-se moradias da área conforme informações obtidas na Secretaria da Habitação de Osasco. Uma líder comunitária identificou as crianças nas habitações sorteadas. Assim, foram selecionadas 100 crianças. Seus pais ou responsáveis foram convidados para participar de reunião na qual foi exposto o projeto de pesquisa. Das 100 crianças sorteadas, 86 concordaram em participar e realizaram todos os exames laboratoriais. Portanto, tal grupo representou uma amostra probabilística das crianças com 6 a 10 anos que habitavam a área onde foi realizado o estudo.

O grupo da escola particular foi constituído com alunos do ensino fundamental do Colégio Oswaldo Cruz de Osasco. A coordenação pedagógica convidou os responsáveis de seus alunos para participar do estudo. Das 60 crianças, cujos pais ou responsáveis demonstraram interesse na participação do estudo, 43 concordaram em participar. Das 43 crianças, 7 (16,3%) não coletaram todos os exames. Portanto, esse grupo foi constituído por 36 crianças e trata-se de uma amostra de conveniência que incluiu todos os que aceitaram participar do estudo.

Quanto ao tamanho da amostra, pretendia-se incluir o mesmo número de crianças nos dois grupos do estudo, o que não foi possível em função do menor interesse dos pais das crianças da escola particular em participar do projeto. Os resultados preliminares obtidos (estudo piloto) permitiram constatar que o número de crianças estudadas permitiria identificar diferença estatisticamente significativa para a principal variável do estudo, ou seja, número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes das crianças dos dois estratos socioeconômicos avaliados.

Para avaliação das condições socioeconômicas, foi realizada entrevista com as mães ou responsáveis. Foi empregado um questionário estruturado sobre os dados demográficos, materiais usados na construção das moradias e disponibilidade de abastecimento de água, rede pública de esgoto e recolhimento de lixo, além das informações necessárias para o emprego do Critério de Classificação Econômica Brasil<sup>14</sup>. Tal critério classifica as famílias em ordem decrescente, de A a E, conforme a posse de bens e a escolaridade do chefe de família.

## Métodos

O estado nutricional foi avaliado com base no peso e estatura aferidos conforme recomendado por Jelliffe<sup>15</sup>. O peso foi mensurado em uma balança digital da marca Filizola™,

em local reservado, com as crianças vestidas apenas com as roupas de baixo. A estatura foi medida com um antropômetro portátil vertical, com as crianças descalças, em pé, tomando-se precauções para que a coluna e as pernas estivessem retificadas. Os escores z de peso para idade, estatura para idade e índice de massa corporal (IMC)<sup>16</sup> foram calculados pelo programa Epi-Info versão 3.4.3<sup>17</sup>, com base nos valores de referência do National Center for Health Statistics (NCHS)<sup>18</sup>.

Os números de unidades formadoras de colônia (UFC) de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes foram determinados em uma amostra de fezes colhida por evacuação espontânea. No intervalo máximo de 2 horas, as fezes foram homogeneizadas, e 1,0 g foi retirada e diluída em solução salina 1:5 (1,0 g de fezes + 4,0 mL de salina a 0,9%). A amostra em salina foi novamente homogeneizada e diluída (1:100). A partir da diluição 1:100 foram realizadas diluições sucessivas ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ). Um volume de 0,1 mL de cada diluição foi semeado em placas, contendo os meios seletivos de Ágar Rogosa SL (Difco), para cultivo de lactobacilos e Ágar Beerens<sup>19</sup>, para cultivo de bifidobactérias. As placas foram incubadas em anaerobiose a 37 °C durante 48 e 72 horas. Após o período de incubação, o número das UFC/g foi determinado e uma colônia de cada meio seletivo foi selecionada para a análise morfológica, após coloração de Gram.

O isolamento e identificação de *Escherichia coli* diarreio-gênica nas fezes foi realizada com métodos bioquímicos e sorológicos, complementados por testes de hibridização com sondas genéticas. Esta pesquisa foi realizada pela equipe do laboratório de Disciplina de Microbiologia da UNIFESP-EPM, empregando os métodos tradicionais<sup>20</sup>.

Para a análise estatística utilizou-se o programa SigmaStat 3.5 para Windows<sup>21</sup>, com nível de significância de 5%. A comparação entre os grupos foi realizada com os testes do qui-quadrado ou exato de Fisher para as variáveis categóricas e os testes de Mann-Whitney ou Wilcoxon para variáveis contínuas.

## Resultados

Na Tabela 1 são comparados idade, sexo, classe socioeconômica, condições da moradia e estado nutricional. A idade foi similar nos dois grupos. Quanto ao sexo, observou-se maior número de meninas na escola particular ( $p = 0,029$ ). O Critério de Classificação Econômica Brasil mostrou que no grupo da favela as famílias pertenciam às classes C, D e E. No grupo da escola particular, as famílias pertenciam às classes A e B, com exceção de uma família da classe C. Grande parte das moradias das crianças do grupo da favela apresentava fornecimento de água clandestina, dejetos enviados para fossa ou campo aberto e

**Tabela 1** - Idade, sexo, classe socioeconômica, serviços públicos nas moradias e escores z de peso-idade, estatura-idade e do IMC de acordo com os grupos estudados

Variáveis	Favela (n = 86)	Escola particular (n = 36)	p
Idade (meses)	100,0 (86,0; 111,0)	105,2 (88,8; 111,3)	0,495*
Sexo			
Masculino	49 (57,0%)	12 (33,3%)	0,029†
Feminino	37 (43,0%)	24 (66,7%)	
Classe socioeconômica			
A	0 (0,0%)	10 (27,8%)	
B	0 (0,0%)	25 (69,4%)	
C	27 (31,8%)	1 (2,8%)	< 0,0001†
D	41 (48,2%)	0 (0,0%)	
E	17 (20,0%)	0 (0,0%)	
Presença de ligação clandestina de água	35 (40,7%)	0 (0,0%)	< 0,0001†
Destino dos dejetos na rede pública de esgoto	8 (9,3%)	36 (100%)	< 0,0001†
Coleta pública de lixo no domicílio	2 (2,3%)	36 (100,0%)	< 0,0001†
Escore z de peso-idade	-0,77 (-1,31; -0,06)	+0,47 (-0,16; +1,58)	< 0,001*
Escore z de estatura-idade	-0,25 (-0,86; +0,06)	+0,09 (-0,33; 0,85)	0,005
Escore z do IMC	-0,58 (-1,35; -0,05)	+0,63 (-0,24; +1,67)	< 0,001*

IMC = índice de massa corporal.

\* Mediana e percentis (25 e 75), teste de Mann-Whitney.

† Teste do qui-quadrado com correção de Yates.

Em 1/86 crianças do grupo da favela não foram obtidos peso, estatura e informação relativa à avaliação da classe socioeconômica.

lixo coletado em lixeira pública. Mais da metade (59,3%) das moradias da favela eram construídas com madeira ou madeira e tijolo. Ao contrário, todas as famílias do grupo da escola particular tinham moradias construídas em alvenaria, com água encanada dentro da casa, destino dos dejetos para a rede de esgoto e coleta de lixo domiciliar.

O grupo da favela apresentou valores de escores z de peso-idade, estatura-idade e IMC inferiores ( $p < 0,05$ ) ao grupo da escola particular (Tabela 1).

Não foram isolados lactobacilos e bifidobactérias em 8,1 ( $n = 7$ ) e em 11,6% ( $n = 10$ ), respectivamente, das fezes das 86 crianças do grupo da favela. Nas amostras de todas as crianças do grupo da escola particular foram isolados lactobacilos e bifidobactérias. A proporção de crianças nas quais não se isolou bifidobactérias nas fezes do grupo da favela (11,6%) foi superior ( $p = 0,032$ , teste exato de Fisher) ao do grupo da escola particular (0,0%). Por sua vez, as contagens de colônias de lactobacilos e de bifidobactérias (Tabela 2) foram superiores no grupo da escola particular em relação ao grupo da favela ( $p < 0,001$ ).

O teste de Wilcoxon mostrou que o número de colônias de bifidobactérias foi superior ao de lactobacilos em ambos os grupos (favela,  $p = 0,007$  e escola particular,  $p = 0,002$ ). O coeficiente de Spearman mostrou correlação entre o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias em cada um dos dois grupos estudados (favela,  $r = +0,824$ ,  $p < 0,000$  e escola particular,  $r = +0,605$ ,  $p < 0,000$ ).

Para relacionar o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias e o estado nutricional no grupo da favela, os escores z foram dicotomizados arbitrariamente no ponto de corte de -1,0 desvio padrão (DP). Os resultados da Tabela 3 mostram que não se observou diferença estatisticamente significativa no número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas crianças com escore z de peso para idade e estatura para idade  $< -1,0$  DP, em comparação com aquelas com escore  $z \geq -1,0$  DP. Por sua vez, as crianças do grupo da favela com escore z de IMC  $< -1,0$  DP apresentaram menor número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias em relação às com escore z acima de -1,0 DP.

A Tabela 4 mostra o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias segundo a presença de *Escherichia coli*

diarreio gênica que foram identificadas em 41 (51,9%) das crianças do grupo da favela e em 6 (17,1%) das crianças do grupo da escola particular. Não se observou diferença estatisticamente significativa no número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias, segundo a presença ou não de *Escherichia coli* diarreio gênica, nos dois grupos estudados.

## Discussão

No município de Osasco, no período entre 1980 e 2000, ocorreu redução na mortalidade infantil e na mortalidade proporcional por diarreia<sup>22,23</sup>. No entanto, nesse município ainda existem grupos que vivem em condições ambientais desfavoráveis, como na região onde foi realizado o presente estudo, conforme pode ser constatado na Tabela 1.

O número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de crianças em idade escolar foram menores nas moradoras em favela do que nas matriculadas em escola particular. Observou-se no grupo da favela menor número de colônias dessas bactérias nas fezes das crianças com escore z de IMC menor do que -1,0 DP.

Em todas as amostras de fezes coletadas na escola particular foram isolados lactobacilos e bifidobactérias. No grupo da favela, tais bactérias não foram isoladas nas amostras de fezes de 10 (11,6%) das 86 crianças. Na Estônia e na Suécia, não foram encontrados lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de 56,0 e 41,0%, respectivamente, de 27 crianças portadoras de alergia aos 2 anos de idade e em 40,0 e 29,0% dos 35 controles com idade similar<sup>24</sup>. Essas taxas, tanto dos alérgicos como dos controles, são superiores às encontradas em nosso estudo, lembrando, entretanto, a diferença de idade das duas casuísticas. Apesar de a proporção de indivíduos sem lactobacilos e bifidobactérias em nosso estudo ter sido inferior ao da literatura, procedeu-se a realização de novas tentativas de pesquisa de lactobacilos e bifidobactérias nos indivíduos com pesquisa inicial negativa, para descartar problemas técnicos ou relacionados ao período de tempo entre a evacuação e o início do processamento da amostra. Essas tentativas, basicamente, confirmaram os resultados iniciais.

Quanto ao número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias, as obtidas no grupo da escola particular foram

**Tabela 2** - Lactobacilos e bifidobactérias (UFC/g de fezes) das crianças dos dois grupos estudados

	Grupos		p
	Favela (n = 86)	Escola particular (n = 36)	
Lactobacilos*	0,250 x 10 <sup>9</sup> (0,070 x 10 <sup>9</sup> - 0,750 x 10 <sup>9</sup> )	1,125 x 10 <sup>9</sup> (0,500 x 10 <sup>9</sup> - 1,950 x 10 <sup>9</sup> )	< 0,001
Bifidobactérias*	0,350 x 10 <sup>9</sup> (0,050 x 10 <sup>9</sup> - 0,900 x 10 <sup>9</sup> )	1,675 x 10 <sup>9</sup> (0,900 x 10 <sup>9</sup> - 2,650 x 10 <sup>9</sup> )	< 0,001

UFC/g = unidades formadoras de colônia por grama.

\* Mediana e percentis (25 e 75), teste de Mann-Whitney.

**Tabela 3** - Lactobacilos e bifidobactérias (UFC/g de fezes) de acordo com os indicadores nutricionais observados nas crianças estudadas no grupo da favela

	Escore z		p*
	-1,0 DP	≥ -1,0 DP	
Escore z de peso-idade	(n = 32)	(n = 53)	
Lactobacilos	0,100 x 10 <sup>9</sup> (0,035 x 10 <sup>9</sup> - 0,670 x 10 <sup>9</sup> )	0,350 x 10 <sup>9</sup> (0,097 x 10 <sup>9</sup> - 0,762 x 10 <sup>9</sup> )	0,122
Bifidobactérias	0,130 x 10 <sup>9</sup> (0,022 x 10 <sup>9</sup> - 0,950 x 10 <sup>9</sup> )	0,400 x 10 <sup>9</sup> (0,097 x 10 <sup>9</sup> - 0,862 x 10 <sup>9</sup> )	0,270
Escore z de estatura-idade	(n = 18)	(n = 67)	
Lactobacilos	0,150 x 10 <sup>9</sup> (0,010 x 10 <sup>9</sup> - 0,400 x 10 <sup>9</sup> )	0,290 x 10 <sup>9</sup> (0,080 x 10 <sup>9</sup> - 0,787 x 10 <sup>9</sup> )	0,210
Bifidobactérias	0,170 x 10 <sup>9</sup> (0,050 x 10 <sup>9</sup> - 1,050 x 10 <sup>9</sup> )	0,350 x 10 <sup>9</sup> (0,076 x 10 <sup>9</sup> - 0,847 x 10 <sup>9</sup> )	0,522
Escore z de IMC	(n = 28)	(n = 57)	
Lactobacilos	0,100 x 10 <sup>9</sup> (0,015 x 10 <sup>9</sup> - 0,450 x 10 <sup>9</sup> )	0,350 x 10 <sup>9</sup> (0,097 x 10 <sup>9</sup> - 0,860 x 10 <sup>9</sup> )	0,015
Bifidobactérias	0,095 x 10 <sup>9</sup> (0,020 x 10 <sup>9</sup> - 0,625 x 10 <sup>9</sup> )	0,420 x 10 <sup>9</sup> (0,100 x 10 <sup>9</sup> - 1,062 x 10 <sup>9</sup> )	0,032

DP = desvio padrão; IMC = índice de massa corporal; UFC/g = unidades formadoras de colônia por grama.

\* Mediana e percentis (25 e 75), teste de Mann-Whitney.

Em 1/86 das crianças estudadas não foram obtidos peso e estatura.

**Tabela 4** - Lactobacilos e bifidobactérias (UFC/g de fezes) de acordo com a presença de *Escherichia coli* diarreio gênica segundo os grupos estudados

	<i>E. coli</i> diarreio gênica		p*
	Positivo	Negativo	
Grupo da favela	(n = 41)	(n = 38)	
Lactobacilos	0,210 x 10 <sup>9</sup> (0,047 x 10 <sup>9</sup> - 0,575 x 10 <sup>9</sup> )	0,195 x 10 <sup>9</sup> (0,070 x 10 <sup>9</sup> - 0,800 x 10 <sup>9</sup> )	0,772
Bifidobactérias	0,400 x 10 <sup>9</sup> (0,047 x 10 <sup>9</sup> - 0,775 x 10 <sup>9</sup> )	0,235 x 10 <sup>9</sup> (0,080 x 10 <sup>9</sup> - 0,900 x 10 <sup>9</sup> )	0,630
Grupo da escola particular	(n = 6)	(n = 29)	
Lactobacilos	1,175 x 10 <sup>9</sup> (0,060 x 10 <sup>9</sup> - 1,700 x 10 <sup>9</sup> )	1,100 x 10 <sup>9</sup> (0,500 x 10 <sup>9</sup> - 2,012 x 10 <sup>9</sup> )	0,554
Bifidobactérias	1,150 x 10 <sup>9</sup> (0,600 x 10 <sup>9</sup> - 2,200 x 10 <sup>9</sup> )	1,800 x 10 <sup>9</sup> (0,950 x 10 <sup>9</sup> - 2,700 x 10 <sup>9</sup> )	0,405

UFC/g = unidades formadoras de colônia por grama.

\* Mediana e percentis (25 e 75), teste de Mann-Whitney.

semelhantes às de crianças matriculadas na Creche Rubens Sverner do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), na cidade de São Paulo<sup>25</sup>. É importante ressaltar que essa creche é frequentada por filhos de funcionários, ou seja, não é uma creche beneficente, como outros serviços que o HIAE mantém, como, por exemplo, o ambulatório que atende a comunidade da favela de Paraisópolis. Nessa creche, com emprego de metodologia semelhante para a avaliação microbiológica, encontrou-se entre 0,86 e 1,30

x 10<sup>9</sup> UFC/g de lactobacilos e 1,20 e 1,30 x 10<sup>9</sup> UFC/g de bifidobactérias<sup>25</sup>. Neste estudo, a mediana do número de colônias de lactobacilos na escola particular foi igual a 1,125 x 10<sup>9</sup> UFC/g superior aos de crianças suecas e estonianas<sup>24</sup> aos 2 anos de idade sem alergia (mediana = 0,53 x 10<sup>9</sup> UFC/g), de 68 crianças japonesas<sup>26</sup> com idade inferior a 20 anos (0,48 x 10<sup>9</sup> UFC/g) e de 5 crianças inglesas<sup>27</sup> com idade entre 16 meses e 7 anos. Além disso, a mediana do número de colônias de bifidobactérias

( $1,675 \times 10^9$  UFC/g) também foi superior às encontradas nestes estudos: suecas e estonianas<sup>24</sup> (mediana =  $0,93 \times 10^9$  UFC/g), japonesas<sup>26</sup> ( $1,01 \times 10^9$  UFC/g) e inglesas<sup>27</sup> ( $0,98 \times 10^9$  UFC/g). Tal diferença pode ser resultado de diferenças nas técnicas de cultura e de diferenças de idade, ressaltando-se que o número de colônias pode variar em crianças, adultos e idosos<sup>27</sup>. Outros fatores ligados aos ambientes e estilo de vida também podem influenciar na composição da microbiota colônica. No estudo realizado com crianças da Estônia e Suécia, o número de colônias dos controles, apresentados acima, foi comparado com crianças alérgicas, e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa<sup>24</sup>. Por outro lado, no estudo realizado no Japão<sup>26</sup>, as crianças com dermatite atópica apresentaram menor número de colônias de lactobacilos ( $0,527 \times 10^9$  e  $0,489 \times 10^9$  UFC/g, respectivamente) e bifidobactérias ( $0,975 \times 10^9$  e  $1,01 \times 10^9$  UFC/g), em relação aos controles, sendo as diferenças estatisticamente significantes.

Neste estudo, as diferenças entre as medianas de lactobacilos e bifidobactérias foram mais expressivas do que nas crianças japonesas<sup>26</sup> com dermatite atópica. Portanto, as diferenças na microbiota colônica parecem sofrer uma influência mais intensa do ambiente desfavorável da favela do que a associada com anormalidades no sistema imunológico de indivíduos com dermatite atópica. O presente estudo foi desenvolvido simultaneamente com outros projetos<sup>28,29</sup> destinados à avaliação de outros aspectos da saúde e nutrição das crianças moradoras na favela. Observou-se que essas crianças sem diarreia da favela, em relação às da escola particular, apresentavam maior frequência de sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado (28,2 e 3,0%, respectivamente)<sup>28</sup> e de *Escherichia coli* diarreiogênica (51,9 e 17,1%)<sup>29</sup>. Assim, o menor número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias, hipoteticamente, podem fazer parte da resposta global do intestino às condições ambientais desfavoráveis. Entretanto, nesse contexto, não se observou diferença no número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias, segundo a presença ou não de *Escherichia coli* diarreiogênica nas fezes das crianças moradoras na favela (Tabela 4). Nessa situação, considerava-se a expectativa de que existiria competição entre bactérias probióticas e *Escherichia coli* diarreiogênicas. Existem evidências mostrando que o aumento do número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias no trato gastrointestinal são benéficos, pois podem propiciar inibição ou prevenção da adesão<sup>30-32</sup>, competição por receptores da mucosa intestinal<sup>33</sup> e proteção contra lesões celulares causadas por bactérias enteropatogênicas<sup>34,35</sup>. Assim, com os métodos utilizados no presente estudo, não foi possível confirmar tal teoria, ressaltando-se que, no momento do estudo, as crianças não apresentavam diarreia. O questionário utilizado neste projeto não incluía questões específicas sobre a ocorrência de doenças atópicas. Nesse contexto, deve ser lembrado que não existe plena concordância nos estudos sobre prevalência de doenças alérgicas em diferentes estratos socioeconômicos<sup>36,37</sup>. Postula-se que baixo nível socioeconômico e parasitoses intestinais poderiam se associar com menor risco de doenças alérgicas, nas quais, hipoteticamente, se esperaria menores contagens

de lactobacilos e bifidobactérias<sup>38-39</sup>. Portanto, as menores contagens de bifidobactérias e lactobacilos no grupo de nível socioeconômico baixo do presente estudo parecem não confirmar tal hipótese<sup>24,26</sup>.

Os dados da Tabela 3 mostram que as crianças com escore  $z < -1,0$  DP do IMC apresentaram menor número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias, sendo a diferença estatisticamente significativa. A escolha arbitrária desse ponto de corte proporcionou a caracterização de menores contagens de bactérias potencialmente probióticas nos indivíduos com menores valores de IMC. Esse resultado não seria obtido caso fosse adotado o clássico limite de  $-2,0$  DP, considerando o pequeno número de crianças que estariam incluídas nessa categoria (7 de 86: 8,2% e 1 de 36: 2,8%, respectivamente nos grupos da favela e da escola particular – resultados não apresentados). Não foram encontradas na literatura dos últimos 10 anos informações sobre a microbiota colônica em crianças com desnutrição energético-proteica. Na década de 70, estudos<sup>12,13</sup> realizados na Guatemala avaliaram a microbiota no tubo digestivo de crianças com desnutrição associada ou não com diarreia. Em um desses artigos<sup>12</sup>, foi avaliada, prospectivamente, a microbiota colônica de quatro crianças com desnutrição energético-proteica grave, antes da terapia nutricional, na fase de estabilização e em dois momentos da fase de recuperação. Constatou-se aumento no número de colônias de anaeróbios colônicos, que incluem os lactobacilos e bifidobactérias, revertendo a inversão da relação anaeróbios/aeróbios observada na desnutrição<sup>12</sup>. O outro artigo<sup>13</sup> que avaliou crianças com diarreia aguda secundária à infecção pela *Shigella dysenteriae* demonstrou em oito pacientes aumento no número da soma de colônias de lactobacilos e bifidobactérias entre o terceiro e o décimo dia de antibioticoterapia.

Nos últimos anos, os probióticos vêm sendo utilizados na prevenção de anormalidades gastrointestinais e na desnutrição induzida experimentalmente em animais<sup>40,41</sup>. Por outro lado, evidências recentes de experimentos com animais mostram que a microbiota intestinal pode interferir no processo de regulação do metabolismo energético<sup>42</sup>. Na Finlândia, observou-se que um grupo de 25 crianças com excesso de peso aos 7 anos de idade apresentava menor número de colônias de bifidobactérias e maior número de colônias de *Staphylococcus aureus* na sua microbiota colônica no final do primeiro ano de vida, em relação a 24 escolares com peso normal<sup>43</sup>. Neste estudo, excesso de peso foi encontrado em 5 (13,9%) das 36 crianças da escola particular, sendo que o número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes de tais crianças não diferiram significativamente do encontrado nas crianças do mesmo grupo com peso normal (resultados não apresentados). Essa informação, entretanto, deve ser analisada com cautela, considerando o pequeno número de crianças no grupo da escola particular.

Em conclusão, a microbiota de crianças escolares que moram em condições ambientais desfavoráveis apresenta menor número de colônias de lactobacilos e bifidobactérias nas fezes, especialmente naquelas com menores valores do IMC.

## Referências

- Morais MB, Jacob CM. *The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice*. J Pediatr (Rio J). 2006;82:S189-97.
- Penna FJ, Péret LA, Vieira LQ, Nicoli JR. *Probiotics and mucosal barrier in children*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008;11:640-4.
- Holzappel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. *Overview of gut flora and probiotics*. Int J Food Microbiol. 1998;41:85-101.
- Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. *Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation?* Gut. 2002;50 Suppl 3:III54-9.
- Mountzouris KC, McCartney AL, Gibson GR. *Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation*. Br J Nutr. 2002;87:405-20.
- Parracho H, McCartney AL, Gibson GR. *Probiotics and prebiotics in infant nutrition*. Proc Nutr Soc. 2007;66:405-11.
- Menzies IS, Zuckerman MJ, Nukajam WS, Somasundaram SG, Murphy B, Jenkins AP, et al. *Geography of intestinal permeability and absorption*. Gut. 1999;44:483-9.
- Campbell DI, Murch SH, Elia M, Sullivan PB, Sanyang MS, Jobarteh B, et al. *Chronic T cell-mediated enteropathy in rural west African children: relationship with nutritional status and small bowel function*. Pediatr Res. 2003;54:306-11.
- Kelly P, Menzies I, Crane R, Zulu I, Nickols C, Feakins R, et al. *Responses of small intestinal architecture and function over time to environmental factors in a tropical population*. Am J Trop Med Hyg. 2004;70:412-9.
- dos Reis JC, de Moraes MB, Oliva CA, Fagundes-Neto U. *Breath hydrogen test in the diagnosis of environmental enteropathy in children living in an urban slum*. Dig Dis Sci. 2007;52:1253-8.
- Torres AL. *Estudo microbiológico da diarréia aguda da criança em uma comunidade de favelados da cidade de São Paulo [tese]*. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo;1984.
- Mata LJ, Jiménez F, Cordón M, Rosales R, Prera E, Schneider RE, et al. *Gastrointestinal flora of children with protein-calorie malnutrition*. Am J Clin Nutr. 1972;25:118-26.
- Mata LJ, Mejicanos ML, Jiménez F. *Studies on the indigenous gastrointestinal flora of Guatemalan children*. Am J Clin Nutr. 1972;25:1380-90.
- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP). *Critério de classificação econômica Brasil [página na Internet]*. São Paulo; 2003 [citado 2006 Abr 28]. [http://www.abep.org/codigosguias/ABEP\\_CCEB.pdf](http://www.abep.org/codigosguias/ABEP_CCEB.pdf)
- Jelliffe DB. *Evaluación del estado de nutrición de la comunidad (con especial referencia a las encuestas en las regiones en desarrollo)*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1968.
- World Health Organization. *Physical status: the use of and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee*. Geneva; WHO; 1995.
- Epi-info [computer program]. Version 3.4.3. Atlanta (GA): Center of Disease Control and Prevention; 2007.
- National Center for Infectious Diseases [homepage on the Internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention (US); [Modified 2008 Aug 6]. 2000 CDC Growth Charts: United States; [reviewed 2008 May 16; cited 2008 Aug 6]. <http://www.cdc.gov/growthcharts/>
- Beerens H. *Detection of bifidobacteria by using propionic acid as a selective agent*. Appl Environ Microbiol. 1991;57:2418-9.
- Scaletsky IC, Fabbriotti SH, Carvalho RL, Nunes CR, Maranhão HS, Moraes MB, et al. *Diffusely adherent Escherichia coli as a cause of acute diarrhea in young children in Northeast Brazil: a case-control study*. J Clin Microbiol. 2002;40:645-8.
- SigmaStat [computer program]. Version 3.5 for Windows. San Jose (CA): Systat Software Inc.; 2005.
- Melli LC, Waldman EA. *Temporal trends and inequality in under-5 mortality from diarrhea*. J Pediatr (Rio J). 2009;85:21-7.
- Victoria CG. *Diarrhea mortality: what can the world learn from Brazil?* J Pediatr (Rio J). 2009; 85:3-5.
- Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. *The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children*. Clin Exp Allergy. 1999;29:342-6.
- Nóbrega FJ, Trabulsi LR, Keller R, Franzolin MR, Alves RC, Santos MF, et al. *Efeitos do prebiótico (oligossacarídeo) em leite em pó modificado na flora intestinal: comparação com leite em pó modificado sem prebiótico em estudo duplo-cego*. Rev Paul Pediatr. 2004;22:205-11.
- Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamoto H, Ikenaga T, Tajiri Y, et al. *Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects*. J Allergy Clin Immunol. 2003;111:587-91.
- Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. *Variation in human intestinal microbiota with age*. Dig Liver Dis. 2002;34 Suppl 2:S12-8.
- Mello CS. *Estado nutricional e indicadores de enteropatia ambiental em escolares pertencentes a dois estratos socioeconômicos [dissertação]*. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2008.
- Souza TB. *Pesquisa de Escherichia coli diarreogênica nas fezes de crianças de diferentes níveis sociais do município de Osasco [dissertação]*. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2008.
- Forestier C, De Champs C, Vatoux C, Joly B. *Probiotic activities of Lactobacillus casei rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties*. Res Microbiol. 2001;152:167-73.
- Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. *Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions*. Appl Environ Microbiol. 1993;59:4121-8.
- Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. *Probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression*. Am J Physiol. 1999;276:G941-50.
- Marco ML, Pavan S, Kleerebezem M. *Towards understanding molecular modes of probiotic action*. Curr Opin Biotechnol. 2006;17:204-10.
- Liévin-Le Moal V, Amsellem R, Servin AL, Coconnier MH. *Lactobacillus acidophilus (strain LB) from the resident adult human gastrointestinal microflora exerts activity against brush border damage promoted by a diarrhoeagenic Escherichia coli in human enterocyte-like cells*. Gut. 2002;50:803-11.
- Resta-Lenert S, Barrett KE. *Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)*. Gut. 2003;52:988-97.
- Gehring U, Pattenden S, Slachtova H, Antova T, Braun-Fahrlander C, Fabianova E, et al. *Parental education and children's respiratory and allergic symptoms in the Pollution and the Young (PATY) study*. Eur Respir J. 2006;27:95-107.
- Almqvist C, Pershagen G, Wickman M. *Low socioeconomic status as a risk factor for asthma, rhinitis and sensitization at 4 years in a birth cohort*. Clin Exp Allergy. 2005;35:612-8.
- Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Strachan DP, Anderson HR, Rodriguez EA, et al. *Risk factors for atopy among school children in a rural area of Latin America*. Clin Exp Allergy. 2004;34:845-52.
- Nascimento-Carvalho CM, Rocha H, Benguigui Y. *Effects of socioeconomic status on presentation with acute lower respiratory tract disease in children in Salvador, Northeast Brazil*. Pediatr Pulmonol. 2002;33:244-8.
- Dock DB, Aguilar-Nascimento JE, Latorraca MQ. *Probiotics enhance the recovery of gut atrophy in experimental malnutrition*. Biocell. 2004;28:143-50.
- Dock DB, Latorraca MQ, Aguilar-Nascimento JE, Gomes-da-Silva MH. *Probiotics enhance recovery from malnutrition and lessen colonic mucosal atrophy after short-term fasting in rats*. Nutrition. 2004;20:473-6.

42. DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE. [Gut microbiota and its possible relationship with obesity](#). Mayo Clin Proc. 2008;83:460-9.
43. Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. [Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight](#). Am J Clin Nutr. 2008;87:534-8.

Correspondência:  
Mauro Batista de Moraes  
Rua Pedro de Toledo, 441  
CEP 04039-031 - São Paulo, SP  
Tel.: (11) 5579.5834  
Fax: (11) 5579.5834  
E-mail: mbmoraes@osite.com.br