



Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia

Dissertação de mestrado

“Para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia”: o que há de verdadeiro nesta recomendação?

Autor: Gissele Vargas da Rosa Gonçalves¹

Orientador: Fernando Fornari^{1,2}

Co-orientador: Luiz Carlos Kreutz³

Colaboradores: Raíssa Canova³, Ana Paula Cargnelutti Venturini²

¹PPG: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, UFRGS

²Faculdade de Medicina, UPF

³PPG em Bioexperimentação, FAMV, UPF

Junho de 2016

CIP CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

CIP - Catalogação na Publicação

Vargas da Rosa Gonçalves, Gissele
"Para seu intestino funcionar melhor, coma mais
fibras e tome 2 litros de água por dia": o que há de
verdadeiro nesta recomendação? / Gissele Vargas da
Rosa Gonçalves. -- 2016.

72 f.

Orientador: Fernando Fornari .
Coorientador: Luiz Carlos Kreutz .

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. ingestão de água . 2. Fibras alimentares . 3.
hábito intestinal . 4. qualidade de vida. 5.
microbiota. I. Fornari , Fernando , orient. II.
Kreutz, Luiz Carlos, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Ao meu professor e orientador Fernando Fornari

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por ter abençoado meus pais e ter concedido minha vida como fruto do amor entre eles. Pais que me criaram com amor e dentro dos ensinamentos e valores cristãos.

Com muito carinho e sinceridade sou extremamente grata ao meu orientador Dr Fernando Fornari por ter me escolhido como sua aluna e me concedido esta oportunidade. Estou certa de que não conseguiria outro orientador tão atencioso e paciente.

Ao professor Dr Luiz Carlos Kreutz por abrir as portas da Universidade de Passo Fundo e permitir que trabalhássemos juntos. Através dele também tive a oportunidade de conhecer a mestrandia Raíssa, pessoa de grande importância para a correta análise de dados deste trabalho e a quem desejo todo o sucesso e felicidade.

Por fim agradeço ao meu marido por todos os momentos que já vivemos nestes 12 anos de convivência e especialmente por ter me dado forças de continuar quando, por algum momento, desanimei. Que Deus continue abençoando nossas vidas.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
APRESENTAÇÃO.....	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE FIGURAS	6
INTRODUÇÃO.....	7
REVISÃO DE LITERATURA	9
JUSTIFICATIVA	15
QUESTÃO DA PESQUISA.....	16
HIPÓTESE	16
OBJETIVOS.....	16
Geral	16
Específicos.....	16
MÉTODOS.....	17
Delineamento.....	17
Fatores em estudo.....	17
Desfechos	17
Participantes	17
Consumo experimental de fibra e água	18
Protocolo do estudo	19
Avaliação de qualidade de vida.....	21
Análise das fezes	21
Urina de 24 h	25
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	26
RESULTADOS	26
Participantes	26
Ingestão de fibras e líquidos	27
Sintomas abdominais.....	29
Hábito intestinal.....	29
Qualidade de vida	30
Características das fezes	32
Diurese.....	32
Microbiota intestinal.....	33
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÕES	43
PERSPECTIVAS	43
CRONOGRAMA	44
ORÇAMENTO.....	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXOS	50

RESUMO

Fundamento e objetivo: Mudanças na ingestão de fibra e água podem influenciar a fisiologia intestinal. Este conceito simplista fundamenta a recomendação médica popular de aumentar o consumo de fibras e ingerir 2 litros de água por dia para o tratamento da constipação intestinal. O nosso objetivo foi avaliar o que há de verdadeiro nesta recomendação, primeiramente em indivíduos saudáveis. **Métodos:** Neste ensaio clínico randomizado, não cego, de grupos paralelos, 20 voluntários sadios tiveram suas variáveis basais determinadas (dieta, hábito intestinal, qualidade de vida e microbiota intestinal), seguido de randomização para tratamentos de 14 dias com aumento na ingestão de fibras (grupo F) ou aumento de fibras acompanhado da ingestão de 2 litros de água por dia (grupo FA), repetindo-se a aferição das variáveis ao final. **Resultados:** Dezenove participantes foram analisados, sendo 10 no grupo F e 9 no grupo FA. A maioria dos participantes (68,4%) desenvolveu um ou mais sintomas abdominais, particularmente os do grupo F, em comparação ao FA (90% vs. 44%; $P = 0,034$). Participantes de ambos os grupos aumentaram significativamente o número de evacuações/semana (grupo F: 6,8 antes vs. 8,8 depois; grupo FA: 8,4 antes vs. 9,9 depois; $P < 0,05$), enquanto que apenas os participantes do grupo FA apresentaram aumento no peso bruto fecal (71,5 g vs. 126 g; $P = 0,020$) e no percentual de água nas fezes (74,5% vs. 78,4%; $P = 0,038$). A qualidade de vida mensurada pelo WHOQOL-Bref não diferiu em nenhuma intervenção. O tratamento com FA aumentou significativamente a população de bactérias do gênero *Bacteroides* e *Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* e *Bifidobacterium* sp, enquanto que ambos FA e F reduziram a contagem das bactérias do gênero *Desulfofibrio*. **Conclusões:** Em voluntários sadios, o aumento no consumo de fibras e água melhorou o hábito intestinal, mas foi acompanhado de sintomas abdominais, particularmente quando o

aumento na ingestão de fibras não foi acompanhado por aumento no consumo de água. O efeito na microbiota também foi superior no grupo tratado com fibra e água.

Palavras chave: Água; fibras alimentares; hábito intestinal; qualidade de vida; microbiota.

ABSTRACT

Background and aims: Intestinal physiology can be influenced by changes in fiber and water intake. This simple concept supports the recommendation of increasing fiber and water ingestion for treatment of bowel constipation. The aim of our study was to test whether such recommendation is true in healthy volunteers. **Methods:** In this open label clinical trial, 20 healthy participants had their basal characteristics determined (diet, bowel function, quality of life and intestinal microbiota), followed by randomization for 14 days treatment with increased fiber consumption (group F) or increased fiber and water intake (group FW), with reassessment of the variables at the end. **Results:** Nineteen participants were analyzed (10 F and 9 FW). The majority of them (68.4%) developed one or more abdominal symptoms during the treatments, particularly the group F as compared to FW (90% vs. 44%; $P = 0.034$). Both groups showed increased number of evacuations per week (group F: 6.8 before vs. 8.8 after; group FA: 8.4 vs. 9.9; $P < 0.05$), whereas group FW presented an increase in both fecal weight (71.5 g vs. 126 g; $P = 0.020$) and water percentage in feces (74.5% vs. 78.4%; $P = 0.038$). Quality of life measured by WHOQOL-Bref did not differ in any intervention. Participants receiving FW had a significant increase in bacteria from the *Bacteroides* and *Prevotella* genus, *Faecalibacterium prausnitzii* and *Bifidobacterium*, whereas both FW and F had a reduced number of *Desulfofibrio*. **Conclusions:** In healthy volunteers, a higher intake of fiber and water improved the bowel function but was accompanied by abdominal symptoms, particularly when the dietary fiber was introduced without changes in water intake. The effect on fecal microbiota was superior in participants treated with fiber and water.

Keywords: Alimentary fiber; bowel habit; quality of life; microbiota; water.

APRESENTAÇÃO

Gissele Vargas da Rosa Gonçalves é graduada em Nutrição pela Universidade Federal de Pelotas (2006) e possui especialização em Nutrição Clínica pela Universidade Gama Filho (2010). Atua na área de nutrição clínica e completou os créditos necessários para defesa da dissertação de mestrado no Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
CEP-UPF	Comitê de ética e pesquisa da Universidade de Passo Fundo
CI	Constipação intestinal
DRIS	Dietary reference intakes
FODMAPS	Oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis
PCR	Reação em cadeia da polimerase
QV	Qualidade de vida
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
WHOQOL	World Health Organization quality of life assessment instrument

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do sachê de fibra oferecido aos participantes do estudo.....	19
Tabela 2. Fórmulas utilizadas para cálculo da matéria seca.....	22
Tabela 3. <i>Primers</i> usados para o estudo de DNA de bactérias da microbiota.....	24
Tabela 4. Características dos participantes (n = 19).....	27
Tabela 5. Ingestão de fibras e líquidos durante as etapas basal e tratamento.....	28
Tabela 6. Hábito intestinal dos participantes nas etapas basal e tratamento	30
Tabela 7. Qualidade de vida dos participantes nas etapas basal e tratamento	31
Tabela 8. Características físicoquímicas das fezes.....	32
Tabela 9. Microbiota intestinal nos 19 participantes.....	34
Tabela 10. Microbiota intestinal nos grupos F e FA	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Critérios de Roma III para diagnóstico de constipação intestinal	19
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma mostrando as etapas do estudo	19
Figura 2. Foto do gel de agarose para as bactérias do grupo dos <i>Bacteroides</i> e <i>Prevotella</i>	32

INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal e seus órgãos anexos são cruciais na homeostase humana por serem responsáveis pela digestão e absorção dos alimentos e a eliminação de resíduos. O órgão onde ocorre a maior parte da absorção de nutrientes é o intestino delgado, enquanto que o intestino grosso absorve água e armazena os resíduos alimentares para posterior excreção na forma de fezes. Em pessoas saudáveis o trato gastrointestinal tem funcionamento regular e a eliminação de fezes se dá em consistência pastosa. Definir a frequência “normal” de evacuação não é uma tarefa fácil, mas se aceita que 1 a 2 evacuações ao dia ou em dias alternados seja indicativo de normalidade. Alterações no hábito intestinal podem se manifestar como diarreia e constipação, além de sintomas abdominais e prejuízo na qualidade de vida. Constipação é uma das principais queixas em atendimentos de cuidados primários, acometendo pessoas de todas as idades e de ambos os sexos. Dentre os tratamentos para constipação cursa a recomendação usual de que o paciente consuma uma quantidade maior de fibras alimentares e aumente a ingestão de água para 2 litros.

Fibras alimentares são carboidratos complexos que passam quase que intactos pelo trato gastrointestinal desempenhando importantes funções. Entre elas podemos ressaltar o aumento do volume fecal, principalmente pela ingestão de fibra insolúvel. A fermentação das fibras alimentares é realizada por bactérias que habitam o intestino produzindo acetato, propionato e butirato, conhecidos como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), além de ácido lático e gases. Algumas fibras são consideradas como prebióticos porque no processo de fermentação fornecem substrato para o aumento de bactérias benéficas e, com isso, há redução de bactérias patogênicas ao hospedeiro. Na prática clínica é comum recomendar o aumento da ingestão de água além de fibras, porém alguns estudos baseiam-se apenas na ingestão de líquidos para avaliar o hábito intestinal. Por outro lado, estudos que experimentaram o aumento de fibras

em pessoas saudáveis ou pacientes, geralmente, não mencionam a quantidade de água que é ingerida, tornando-se uma orientação vaga do ponto de vista científico.

Diante destas observações decidimos realizar um ensaio clínico onde testamos em voluntários saudáveis o aumento da ingestão de fibras acompanhado ou não do aumento da ingestão de água, observando sintomas, hábito intestinal, qualidade de vida, características físicoquímicas das fezes e variações na microbiota intestinal.

REVISÃO DE LITERATURA

O trato gastrointestinal é essencial na manutenção da homeostase humana, especialmente por sua ação nos processos de digestão e absorção dos nutrientes. Não menos importante é seu papel no preparo e eliminação de gases e bolo fecal, função que determina o hábito intestinal humano^{1 2}. Este pode ser influenciado por fatores intrínsecos e ambientais, dentre os quais salientamos o consumo de fibras e de água na dieta. Na prática clínica, distúrbios do hábito intestinal, manifestos como diarreia e, especialmente, a constipação intestinal, são frequentemente manejados com mudanças na composição e aumento no volume de fibras ingerido, usualmente acompanhado da recomendação do aumento da ingestão de líquidos, em especial a água, para 2 litros por dia. É sabido que a fibra alimentar, por sua resistência ao processo digestivo, exerce diversas ações que podem resultar em estímulo ao peristaltismo intestinal e à formação do bolo fecal, podendo facilitar e melhorar o funcionamento do intestino. Assim, a recomendação mais popularmente conhecida “para seu intestino funcionar melhor, ingira mais fibras e tome 2 litros de água por dia” não leva em consideração a qualidade de fibras nem tampouco o esforço despendido para o elevado consumo de água na vida corriqueira. Além disso, essa conduta é respaldada por um escasso número de estudos científicos, especialmente os que abordam a fisiologia intestinal¹⁻³.

Constipação intestinal (CI) é conceituada como a redução na frequência das evacuações ou simplesmente uma maior dificuldade em eliminar as fezes, em comparação a um hábito normal^{4,5}. A CI pode ser aguda ou, se durar mais de 3 meses, crônica⁶. É uma das queixas mais comuns que leva os pacientes a procurarem atendimento médico, principalmente em cuidados primários. No continente americano, aproximadamente 15% a 20% da população adulta tem constipação⁷⁻¹⁰. A manifestação clínica se dá através de vários sintomas que variam em complexidade, cronicidade e intensidade, embora alguns considerem apenas como uma diminuição da frequência evacuatória⁵. É relatada mais frequentemente pelo sexo

feminino e em cerca de 30% dos idosos, mas ocorre em ambos os sexos e atinge todas as idades¹¹. Critérios consensuais como o Roma III auxiliam no diagnóstico, já que muitas vezes pacientes e médicos divergem na definição da doença com base na apresentação de sintomas¹². Segundo os critérios de Roma III, a CI se caracteriza pela presença de 2 ou mais entre 6 sintomas listados no Quadro 1, e presentes por pelo menos 12 semanas durante os últimos 6 meses¹³. Dentre inúmeras opções terapêuticas para o manejo de pacientes constipados, consta o aumento da ingestão diária de fibras e água.

Quadro 1. Critérios de Roma III para diagnóstico de constipação intestinal

1. Esforço aumentado para eliminar as fezes em pelo menos ¼ das evacuações.
2. Fezes fragmentadas ou endurecidas em pelo menos ¼ das evacuações.
3. Sensação de evacuação incompleta em pelo menos ¼ das eliminações.
4. Necessidade de manobra manual para eliminar as fezes em pelo menos ¼ das evacuações.
5. Sensação de bloqueio evacuatório ao nível do reto ou do canal anal em pelo menos ¼ das evacuações.
6. Menos de 3 evacuações por semana.

Fibras são carboidratos complexos que resistem a hidrólise pelas enzimas digestivas, passando quase que intactas pelo trato gastrointestinal¹⁴. São classificadas em solúveis e insolúveis. Dentre as solúveis destacam-se pectina, goma, mucilagens e hemicelulose, enquanto que as insolúveis são representadas pela celulose, lignina, algumas hemiceluloses e mucilagens. Também diferem quanto ao segmento intestinal onde ocorre sua fermentação, sendo a fibra solúvel rapidamente fermentada no colón proximal e as insolúveis (pouco fermentáveis) ao longo do cólon. A fermentação é realizada por bactérias anaeróbias, levando

à produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta e gases. Conseqüentemente, há redução do pH do lúmen intestinal e estimulação da proliferação de células epiteliais do cólon¹⁵. Dessa forma uma dieta com uma mistura de fibras solúveis e insolúveis é necessária para expandir os produtos da fermentação em todo o epitélio colônico¹⁶. Inulina, frutooligosacarídeos e amidos (resistentes à digestão) são funcionalmente semelhantes às fibras e portanto são incluídos em seu grupo¹⁴. A recomendação quanto ao consumo diário ideal de fibras para adultos (19 a 50 anos), segundo as DRIS (Dietary Reference Intakes)¹⁷, é de 38g para homens e 25g para mulheres. No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda uma ingestão diária mínima de 25g, independente do sexo¹⁸. Diversos benefícios são promovidos ao organismo pela ingestão de fibras alimentares. As fibras solúveis têm, entre outros, a capacidade de lentificar o esvaziamento gástrico, otimizar o índice glicêmico dos alimentos e reduzir o colesterol sérico. Inulina e frutooligosacarídeos agem como prébioticos, isto é, ao serem fermentados no colón, o produto de seu metabolismo promove uma seleção bacteriana, aumentando o número de bactérias benéficas em detrimento das bactérias potencialmente prejudiciais¹⁹. Já as fibras insolúveis, entre outras funções, retém água e dessa forma aumentam o volume das fezes, sendo amplamente recomendadas no tratamento da constipação intestinal^{14,20}. Porém, há estudos que mostram que a ingestão de baixa quantidade de fibras não leva a constipação, já que controles e pacientes tiveram ingestão semelhantes^{21,22}. Recente ensaio clínico testou o aumento da ingestão de grãos integrais por seis semanas e observou tendência ao aumento no peso das fezes, sem efeito quanto a frequência evacuatória. Neste referido estudo não houve alteração nos sintomas e na microbiota intestinal²³. Kok-Sun Ho e colaboradores acompanharam por seis meses os efeitos de três tipos de dieta: rica em fibras, reduzida em fibras e isenta de fibras em pacientes com constipação. A conclusão dos autores foi que a redução da ingestão de fibras melhorou sintomas (como inchaço, dor e flatos) e a frequência de evacuações²⁴. Sintomas semelhantes aos causados pelas fibras

podem ocorrer devido a má absorção de carboidratos de cadeia curta (oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis), conhecidos como FODMAPs²⁵⁻²⁷. No entanto, outros fatores estão relacionados tais como presença de doença na mucosa intestinal e alterações na microbiota, ocorrendo geralmente em pacientes com síndrome do intestino irritável²⁵.

Alterações no hábito intestinal podem afetar a qualidade de vida, sendo que a intensidade dos sintomas está diretamente relacionada com a diminuição do bem estar²⁸. Por definição, qualidade de vida (QV) é um parâmetro subjetivo e, por esta razão, o questionamento direto utilizando-se instrumentos com aprovação psicométrica torna-se uma maneira simples e rápida de coletar informações sobre como o paciente sente-se e vive²⁹. Assim, a maneira de avaliar QV dá-se no formato de questionários, que mensuram as “dimensões” ou “domínios da saúde”, seja em relação a qualidade de vida no aspecto geral, os chamados questionários genéricos, seja através de questionários específicos para determinadas enfermidades. Na avaliação da QV não específica, o WHOQOL é amplamente utilizado³⁰. Sua versão abreviada chamada WHOQOL-bref foi elaborada, à semelhança da versão longa, pelo grupo de Qualidade de Vida da Organização Mundial da Saúde sendo um dos instrumentos mais utilizados para avaliar QV em indivíduos adultos³¹. Ambas as versões foram traduzidas para o Português do Brasil por Fleck e colaboradores mostrando-se igualmente eficazes na população brasileira^{32 33}.

Microbioma refere-se ao número total de microrganismos e seu material genético, ao passo que microbiota refere-se ao microbioma presente nos diferentes ecossistemas do corpo humano³⁴. O trato gastrointestinal de mamíferos é colonizado por bactérias, fungos, parasitas e vírus e o número destes micro-organismos aumenta exponencialmente no sentido proximal para o distal, portanto a maior concentração se dá no cólon³⁵. Em pessoas saudáveis a

microbiota intestinal é composta por mais de 1000 espécies de bactérias que participam ativamente dos estados de saúde e doença, sendo alvo de vários estudos recentes³⁶⁻³⁸. Para a homeostase intestinal, a microbiota deve ser diversificada e abundante, com domínio dos filos Firmicutes, Bacteroidetes e em menor proporção Actinobacteria, além de outros fatores que mantenham a barreira intestinal intacta. A alteração na diversidade microbiana, com aumento de patógenos oportunistas, caracteriza a disbiose³⁹. Na literatura a microbiota é analisada através de parâmetros ecológicos globais, incluindo diversidade, quantidade e uniformidade de comunidades microbianas⁴⁰. Alterações na dieta pelo consumo aumentado de fibras têm sido associadas a mudanças significativas na microbiota⁴¹. Em 2011, Walker e colaboradores concluíram que mudanças alimentares de curto prazo podem interferir substancialmente na composição da microbiota e que o estímulo para estas respostas depende do estado intestinal anterior à intervenção, à fermentação microbiana de substratos alimentares no cólon e estão sujeitas a diferenças interindividuais. Os autores sugeriram que o aconselhamento dietético referente ao consumo de fibras deva ser personalizado em abordagens terapêuticas⁴². A quantidade e diversidade da microbiota têm sido avaliadas utilizando-se análise parcial do DNA bacteriano, em fezes ou amostras de mucosa intestinal, amplificando o DNA de interesse através da reação em cadeia da polimerase (PCR). Para o estudo das bactérias, usualmente utiliza-se primers do gene 16S do RNA ribossomal (rRNA16S) pois é o gene que se mantém mais conservado^{42, 43}.

O aumento da ingestão de líquidos tem sido frequentemente recomendado por médicos como parte do tratamento para constipação em nível de cuidados primários⁴⁴⁻⁴⁶. Segundo James et al, a ingestão de pelo menos 2 litros de líquidos por dia, preferencialmente água, é necessária para um bom funcionamento intestinal¹⁴. Em 1990 Klause e colaboradores avaliaram o impacto da ingestão reduzida de líquidos na frequência intestinal de voluntários saudáveis e provaram que um breve período de privação de líquidos diminui a frequência evacuatória e o

peso das fezes. Neste mesmo estudo, o tempo médio de trânsito oral-anal não foi alterado⁴⁷. Em contraste, um estudo posterior demonstrou que o aumento no consumo de fluidos (água ou fluido isotônico) não alterou o volume de fezes de modo significativo⁴⁸. Estes achados controversos podem ser justificados pela grande capacidade intestinal de absorção de fluidos (até 15 L), mantendo constante o percentual de água nas fezes⁴⁹. Outro fator que pode explicar os resultados conflitantes dos estudos é a variabilidade qualitativa e quantitativa das fibras e líquidos consumidos pelos participantes. Além disso, encontramos apenas um estudo com intervenção simultânea na quantidade de fibras e água, porém sem abordagem quanto a sintomas, características físicoquímicas das fezes e microbiota intestinal⁵⁰.

JUSTIFICATIVA

Embora os benefícios das fibras no hábito intestinal sejam amplamente divulgados, alguns estudos relatam prejuízos quanto ao aparecimento de sintomas abdominais, tempo de trânsito intestinal, frequência de evacuações e consistência das fezes após aumento do consumo de fibras. Por outro lado, ingerir pouca água pode retardar o hábito intestinal e produzir fezes mais consistentes. No entanto, a ingestão elevada de água, isoladamente, não parece trazer benefícios ao hábito intestinal em voluntários sadios⁴⁸. Assim, a sentença “para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia” carece de comprovação científica. Decidimos executar um ensaio clínico em indivíduos saudáveis para obter conhecimento da fisiologia intestinal frente ao desafio com fibras e água, para posteriormente embasar estudos em pacientes com alteração do hábito intestinal.

QUESTÃO DA PESQUISA

Qual é a fundamentação científica para a recomendação “para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia”?

HIPÓTESE

Em voluntários saudáveis, a recomendação “Para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia” é verdadeira.

OBJETIVOS

Geral

Verificar o que há de verdadeiro na recomendação “para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia” em voluntários saudáveis.

Específicos

1. Avaliar se a ingestão aumentada de fibras e de fibras mais água provocam sintomas abdominais.
2. Verificar se a ingestão aumentada de fibras e de fibras mais água altera o hábito intestinal em relação a frequência e esforço evacuatórios.
3. Avaliar se a ingestão aumentada de fibras e de fibras mais água modifica a qualidade de vida relacionada à saúde geral.
4. Avaliar se a ingestão aumentada de fibras e de fibras mais água altera a consistência e o peso das fezes, e a diurese.
5. Determinar o efeito destas abordagens na microbiota intestinal.

MÉTODOS

Delineamento: Estudo do tipo ensaio clínico randomizado, não cego, de grupos paralelos.

Fatores em estudo: Consumo aumentado de fibras e consumo aumentado de fibras e de água.

Desfechos

Primários: Sintomas abdominais, hábito intestinal e qualidade de vida.

Secundários: Características das fezes, diurese e microbiota intestinal.

Participantes

Voluntários sadios foram recrutados através de cartazes expostos em centros médicos de Passo Fundo. Foram incluídas pessoas saudáveis, com idade entre 19 e 50 anos, de ambos os sexos, com índice de massa corporal entre 18,5 e 29,9 kg/m², e que negassem qualquer sintoma abdominal relevante. Para auxiliar nos critérios de inclusão foi aplicado o questionário de avaliação de sintomas intestinais (Anexo 7). Os critérios de exclusão foram: uso de fármacos ou nutracêuticos que atuem no trato gastrointestinal, passado de cirurgia abdominal e qualquer doença aguda ou crônica. Aqueles que manifestaram desejo em participar assinaram do Termo de Consentimento Livre e esclarecido (TCLE, Anexo 1). O tamanho amostral final foi de 20 participantes, que foram divididos em dois grupos de intervenção (n=10 por grupo).

Consumo experimental de fibra e água

Primeiramente, documentamos o consumo basal de fibras, de água e de FODMAPs de cada participante (etapa 1). Sob supervisão nutricional, incluímos aqueles que na dieta basal atingiram até 50% da recomendação de fibras, além do consumo diário de água não superior a 1 litro. Para o cálculo foi usado o software ADS nutri (Universidade Federal de Pelotas – UPPel-, Brasil). A intervenção nutricional foi planejada para atingir a recomendação da ingestão diária de fibras (38g para homens e 25g para mulheres), com quantidade usual de FODMAPs. Dessa forma cada participante foi orientado a ingerir o suplemento de fibras prescritas pela nutricionista Gissele Vargas da Rosa Gonçalves, totalizando 13g para mulheres e 20g para homens ao dia (Tabela 1), e manter ou aumentar o volume de água conforme o grupo que foi sorteado. Todos os participantes receberam um copo graduado para o controle de ingestão de água. O grupo que foi sorteado para aumentar o consumo de água recebeu água mineral (1 garrafa de 1,5L e outra de 0,5L por dia, para ser ingerida diariamente durante a etapa de tratamento (14 dias). Nos últimos três dias da etapa de tratamento os participantes registraram novamente toda sua ingestão alimentar em diário (líquidos e sólidos), para fins de comparação com a etapa basal. As fibras escolhidas (farelo de trigo, pectina e farinha de banana verde) tem como fundamento a mistura de fibras solúveis e insolúvel, além de fácil acesso a estes componentes.

Tabela 1. Composição do sachê de fibra oferecido aos participantes do estudo

Fonte de fibra/ tipo de fibra	Quantidade para mulheres (g)	Quantidade para homens (g)
Farelo de trigo (insolúvel)	2,6	4,0
Pectina (solúvel)	2,6	4,0
Farinha de banana verde (amido resistente)	1,3	2,0

Cada participante deverá consumir 2 sachês ao dia, totalizando 13g para mulheres e 20g para homens (preparados pela farmácia de manipulação Natupharma de Passo Fundo, obedecendo as devidas condições fitossanitárias, sob responsabilidade da Farmacêutica Aline Bianchesi).

Protocolo do estudo

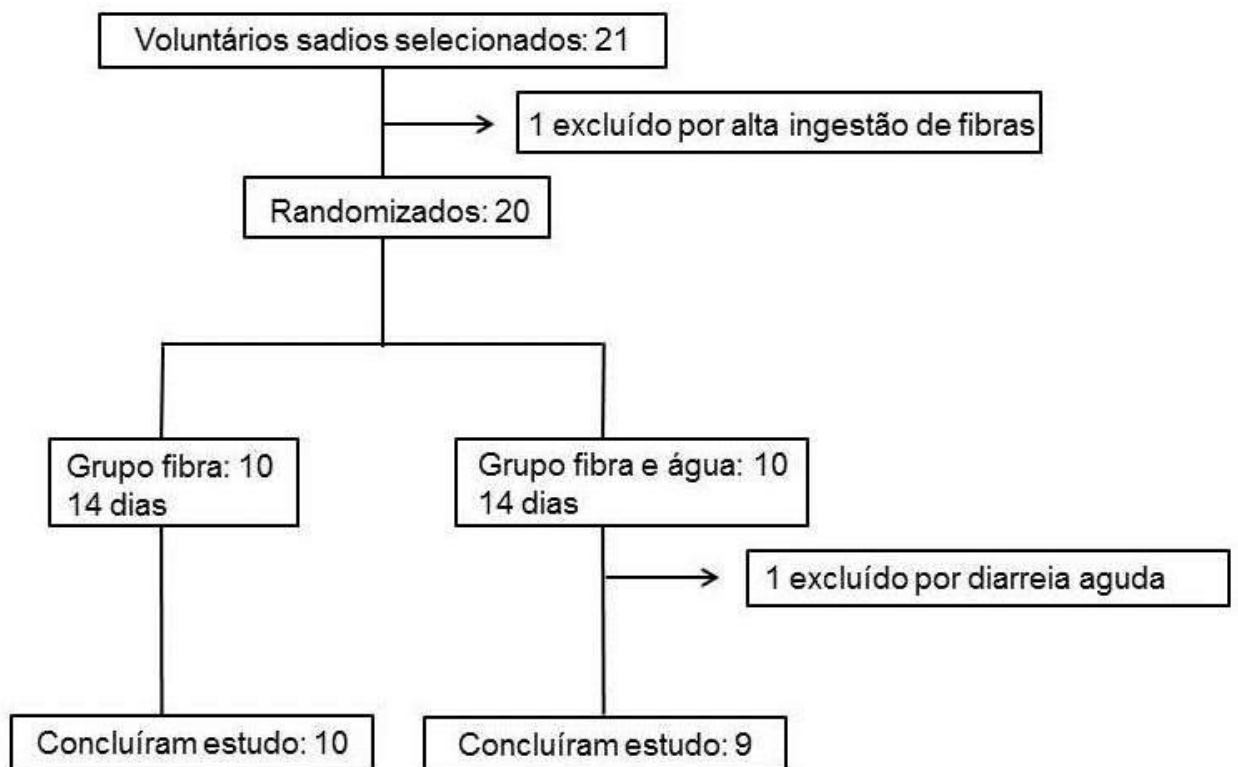
Dados demográficos e clínicos foram coletados e registrados na primeira entrevista (Anexo 2), após assinatura do TCLE (Anexo 1). Na sequência, o protocolo foi composto de duas etapas (Figura 1). Na etapa 1 estudamos os participantes na fase basal, enquanto que na etapa 2 eles foram randomizados para formar dois grupos de 10 cada. A etapa basal teve duração de 7 dias, onde os participantes registraram sua dieta habitual em um diário (Anexo 3), durante os 3 primeiros dias [domingo (dia 1) a terça (dia 3)], anotando os alimentos, preparações e líquidos que ingeriram. Os registros foram avaliados pela autora do estudo através do software ADS Nutri, determinando um padrão dietético basal para comparação com os grupos de tratamento. Durante toda esta etapa os participantes descreveram seu hábito intestinal com horários das evacuações, graduação do esforço evacuatório e consistência subjetiva das fezes (Anexo 4). Para auxiliá-los no registro foi fornecido uma escala para esforço evacuatório [tipo Likert, de 1 (nenhum) a 5 (máximo)] e a escala de Bristol para consistência das fezes (Anexos 5 e 6). No dia 7 houve a coleta das fezes e urina de 24 horas, além de respostas aos questionários de sintomas e qualidade de vida (Anexos 7 e 8).

Na sequência ocorreu a randomização para os dois grupos de tratamento. Para o sorteio utilizamos um envelope com números aleatórios gerados em computador pelo web site Research Randomizer. A etapa tratamento teve duração de 14 dias.

Durante os 14 dias de tratamento os participantes registraram seu hábito intestinal (diariamente) e responderam quanto aos sintomas e qualidade de vida no décimo quarto dia.

Neste mesmo dia coletaram suas evacuações de fezes e urina de 24h.

Figura 1. Fluxograma mostrando as etapas do estudo



Avaliação de qualidade de vida

Utilizamos o questionário simplificado WHOQOL-Bref, instrumento traduzido e validado para o Português do Brasil³³. É composto por 26 questões cujas respostas variam em uma escala Likert de 1 a 5 pontos. As duas primeiras questões referem-se à percepção e à satisfação geral da qualidade de vida e as demais 24 se dividem em quatro domínios: físico (7 questões), psicológico (6 questões), relação social (3 questões) e meio ambiente (8 questões). A pontuação final de cada domínio é obtida pela média dos itens dentro do domínio, resultando em uma escala de 4 (pior) a 20 (melhor). A qualidade de vida global é calculada a partir das médias das notas finais dos domínios, gerando uma escala de 4 a 20. Os participantes responderam os questionários sozinhos, após breve explicação, no último dia de cada fase do estudo (basal e tratamento).

Análise das fezes

Foi realizada no laboratório de microbiologia e imunologia avançada, no campus I da Universidade de Passo Fundo (UPF). As fezes foram coletadas em sacos plásticos estéreis, com capacidade de 1650 mL, contendo tarja de identificação e arame de fechamento. Os sacos foram fornecidos após a análise dos diários alimentares e inclusão dos participantes. Eles foram orientados a não misturar fezes com urina no momento da coleta. No dia anterior à coleta, cada participante recebeu uma caixa de isopor com capacidade de 3L contendo gelo químico, para ser mantido no congelador até o momento da coleta. Imediatamente após a coleta os participantes colocaram a amostra na caixa com gelo e comunicaram a autora, que prontamente executou o transporte das amostras até o laboratório. O tempo médio para as análises foi de 2 horas, não ultrapassando 3 horas. No laboratório foi separada a quantidade necessária para as análises física, química e microbiológica, descritas a seguir:

- 1 Análise física: o peso bruto das fezes foi mensurado com balança de precisão. Após, foi retirado aproximadamente 30g da amostra *in natura*, para avaliação do teor de matéria seca pelo método tradicional em estufa de circulação forçada a 55° C durante 72 horas⁵¹. Após esta etapa, as fezes foram moídas em peneiras de aço com perfurações de 1 mm. Um grama das amostras pré-secas foi pesado em placas de Petry e levados à estufa a 105°C, onde permaneceram por 12 horas. Passado este período de secagem, as placas com as amostras secas foram pesadas. Os valores obtidos foram usados na realização dos cálculos para estimar o percentual de água das fezes (Tabela 2).

Tabela 2. Fórmulas utilizadas para cálculo da matéria seca

	Fórmulas
Matéria pré seca	$\text{massa final a } 55^\circ \text{ C} \times 100 / 30\text{g (massa inicial a } 55^\circ \text{ C)}$
Matéria seca definitiva	$\text{massa final a } 105^\circ \text{ C} \times 100 / 1\text{g (massa inicial a } 105^\circ \text{ C)}$
Matéria seca final	$\text{matéria seca definitiva} \times \text{matéria pré seca} / 100$

- 2 Análise química: o pH das fezes foi mensurado usando um potenciometro. Para esta análise, 1g de fezes foi diluída em 9 mL de água miliQ e devidamente homogeneizada com auxílio de um vórtex. Após, fez-se a mensuração do pH.
- 3 Análise por PCR: a presença de populações específicas de bactérias nas fezes dos participantes do estudo foi estimada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Para tanto, o DNA das amostras fecais foi extraído utilizando-se kit comercial ((Norgen Biotek Corporation, Ontario, Canadá), conforme orientações indicadas pelo fabricante. Após, a concentração do DNA foi mensurada (ng/μl) em

nanoespectrofotômetro e congelado a -20°C até a análise ser feita. Para a PCR foram utilizados *primers* específicos para o gene 16S das seguintes bactérias (Tabela 3): Todas *Eubactérias*, bactérias do grupo (gênero) *Bacteroides e Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, gênero *Bifidobacterium*, *Ruminococcus albus*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridiiforme*, bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, e gênero *Desulfovibrio*^{52 53, 54}. As fotos dos géis de agarose foram tiradas com o equipamento Amersham Imager 600 e posteriormente as bandas de interesse foram quantificadas através de software do próprio equipamento.

Tabela 3. *Primers* usados para o estudo de DNA de bactérias da microbiota

Bactéria	Conjunto de primers (5' → 3')	Sequência de <i>primers</i>
<i>Todas eubactérias</i>	Uni331F	TCCTACGGGAGGCAGCAGT
	Uni797R	GGACTACCAGGGTATCTATCCTGTT
<i>Bacteroides e Prevotella</i>	Bac303F	GAAGGTCCCCCACATTG
	Bac708R	CAATCGGAGTTCTTCGTG
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Fprau223F	GATGGCCTCGCGTCCGATTAG
	Fprau420R	CCGAAGACCTTCTTCCTCC
<i>Gênero Bifidobacterium</i>	Bif164F	GGGTGGTAATGCCGGATG
	Bif601R	TAAGCCATGGACTTTCACACC
<i>Ruminococcus albus</i>	Ralb561F	CAGGTGTGAAATTTAGGGGC
	Ralb807R	GTCAGTCCCCCACACCTAG
<i>Clostridium butyricum</i>	Cbut825F	GTGCCGCGCTAACGCATTAAGTAT
	Cbut1038R	ACCATGCACCACCTGTCTTCCTGCC
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	Cclos99F	AATCTTGATTGACTGAGTGGCGGAC
	Cclos247R	CCATCTCACACTACCGGAGTTTTTC
<i>Enterobacteriaceae</i>	Eco1457F	CATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGC
	Eco1652R	CTCTACGAGACTCAAGCTTGC
<i>Enterococcus faecalis</i>	Efs130F	AACCTACCCATCAGAGGG
	Efs490R	GACGTTTCAGTTACTAACG
<i>Gênero Desulfovibrio</i>	Dsv691F	CCGTAGATATCTGGAGGAACATCAG
	Dsv826R	ACATCTAGCATCCATCGTTTACAGC

Urina de 24 h

A urina de 24 h foi coletada em coletor graduado com capacidade de 2L, na etapa basal e tratamento. Cada participante descartou a primeira amostra de urina nos dias 6 (basal) e 13 (tratamento) e coletou todo o volume urinário nas próximas 24 h. A primeira urina do dia seguinte fez parte da amostra, finalizando a coleta. O volume total de urina foi quantificado em mL. Na eventualidade de um volume urinário maior que 2 L, o participante foi orientado a desprezar os primeiros 2 L e manter a coleta.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram descritos utilizando-se média \pm desvio padrão enquanto que dados qualitativos foram apresentados com frequência absoluta e percentual. Utilizamos o teste t para dados emparelhados na comparação intragrupo e o teste t para amostras independentes na comparação intergrupos para dados com distribuição normal, ou os testes de Wilcoxon e Wilcoxon-Mann-Whitney, respectivamente, para dados assimétricos. As comparações entre tratamentos envolvendo dados qualitativos foram feitas usando o *mid-P*⁵⁵. As análises foram realizadas com os *softwares* Graph Prism 4.0 e WinPEPI, e utilizou-se $P < 5\%$ como indicativo de significância estatística.

O tamanho amostral final foi de 20 participantes, que foram divididos em dois grupos de intervenção (n=10 por grupo), tendo como expectativa um aumento de 50% da frequência intestinal durante os tratamentos com alfa de 5% e poder estatístico de 80%. Esse efeito teve como base o limite superior dos intervalos de evacuações em indivíduos normais, ou seja, uma a cada três dias. Com o aumento esperado de 50% da frequência evacuatória, os participantes passariam a evacuar uma vez a cada dois dias, pelo menos.

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética e pesquisa da UPF no dia 10 de julho de 2014 (CAAE: 32307214.4.0000.5342). Todos os participantes assinaram o TCLE antes de iniciarem as etapas do estudo.

RESULTADOS

Participantes

Vinte e um voluntários sadios iniciaram a etapa basal do estudo. Após esta etapa, um participante foi excluído pela análise do diário alimentar de 3 dias, por ter ingerido grande quantidade de fibras (78% do recomendado). Os 20 restantes completaram todas as etapas do estudo, sendo 10 para o tratamento com fibra (grupo F), e 10 para o tratamento com fibra e água (grupo FA). Para a análise, um participante do grupo FA foi excluído por ter apresentado diarreia aguda durante a etapa basal. Assim, todas as análises foram realizadas com base em 19 participantes. As características destes grupos estão na Tabela 4. Os grupos F e FA não diferiram significativamente quanto a sexo, idade e IMC. Na análise da dieta não houve mudanças significativas quanto ao valor calórico ingerido. Os participantes conseguiram aumentar a quantidade de fibras (grupos F e FA) e modificar o volume de água durante os tratamentos (no grupo FA), conforme solicitado. Assim, durante 14 dias de tratamento, 14 entre 19 participantes ingeriram todos os sachês de fibras, enquanto seis devolveram uma quantidade inferior a 20% do total de sachês ao final da etapa (entre 1 e 5 sachês). As devoluções ocorreram em ambos os grupos, não diferindo significativamente.

Tabela 4. Características dos participantes (n = 19)

	Grupo fibra (n = 10)	Grupo fibra + água (n = 9)	p
Mulheres, n (%)	5 (50)	5 (55)	0,999
Idade, média ± dp	31,3 ± 6,3	30,0 ± 7,0	0,677
IMC, média ± dp	24,2 ± 4,0	22,7 ± 2,3	0,339

Ingestão de fibras e líquidos

A ingestão de fibras durante a etapa basal foi similar entre os grupos (aproximadamente 40% do recomendado), e dobrou na etapa tratamento em ambos F e FA, ficando próximo dos 85% do recomendado (Tabela 5). Na análise por sexo, o consumo médio de fibras durante os tratamentos foi de 22,5g para mulheres (versus 11,2g na etapa basal) e 31,5g para homens (versus 14,4g na etapa basal). O consumo de água foi similar entre os grupos na etapa basal, e posteriormente, significativamente maior no grupo FA, pelo critério de alocação. A ingestão dos demais líquidos que não água foi semelhante na etapa basal, mantendo-se estável no grupo F e reduzido no grupo FA. Finalmente, o consumo de líquidos totais se manteve estável no grupo F e quase dobrou no grupo FA comparando as etapas basal e tratamento.

Tabela 5. Ingestão de fibras e líquidos durante as etapas basal e tratamento

	Fibra (n = 10)	Fibra + água (n = 9)	p
Fibra (%)			
Basal	37,2 ± 12,0	46,2 ± 6,6	0,064
Tratamento*	83,7 ± 14,0	89,9 ± 5,9	0,172
Água (mL)			
Basal	618 ± 254	538 ± 384	0,596
Tratamento‡**	576,7 ± 218	1989 ± 27,24	0,0001
Demais líquidos (mL)			
Basal	794 ± 503	644 ± 265	0,435
Tratamento†	766 ± 462	360 ± 250	0,027
Líquidos totais (mL)			
Basal	1413 ± 560	1183 ± 393	0,320
Tratamento‡	1343 ± 492	2348 ± 242	<0,001

* Houve aumento no percentual de fibras na etapa tratamento em ambos os grupos (p < 0,001).

** Houve aumento significativo no volume de água ingerido apenas no grupo FA (basal vs. tratamento com p = < 0,001), como esperado, e manutenção do mesmo volume no grupo F (p = 0,470).

† Houve redução no volume dos demais líquidos ingerido pelo grupo FA (basal vs. tratamento com p = 0,014), e manutenção do volume no grupo F (p = 0,695).

‡ Houve aumento no volume ingerido de líquidos totais no grupo FA (basal vs. tratamento com p = 0,003), e manutenção deste volume no grupo F (p = 0,391).

Sintomas abdominais

Durante a etapa basal de sete dias, nenhum participante relatou constipação, diarreia ou desconforto abdominal. Entre os 19 participantes, 13 (68,4%) desenvolveram sintomas abdominais durante as etapas de tratamento: dois relataram constipação (10,5%, sendo um do F e um do FA), quatro relataram diarreia (21%, todos do grupo F), e cinco registraram desconforto abdominal (26%, sendo quatro do F e um do FA). Outros sintomas foram relatados: distensão abdominal em 4 participantes do grupo F e em 3 do grupo FA, e urgência evacuatória em 6 do F e em 2 do FA. Entre 10 participantes que receberam apenas fibras, 9 (90%) desenvolveram pelo menos um sintoma abdominal, comparado a 4 entre 9 (44%) que receberam fibra e água (mid-P = 0,034).

Hábito intestinal

Refere-se ao número de evacuação por semana, esforço evacuatório (escala de Likert) e consistência das fezes (escala de Bristol), apresentados na Tabela 6. Na análise de todos os 19 participantes em um único grupo (dados não mostrados na Tabela 6), o número médio de evacuações na etapa basal foi 7,6 por semana, subindo para 9,3 durante os tratamentos ($p < 0,001$). Ambos os grupos F e FA apresentaram um aumento significativo no número de evacuações/semana durante as etapas tratamento, em comparação com a basal. Esforço e consistência não diferiram significativamente entre a etapa basal e a etapa tratamento.

Tabela 6. Hábito intestinal dos participantes nas etapas basal e tratamento

	Basal F	Tto F	p	Basal FA	Tto FA	p
Média ± dp	(n = 10)	(n=10)		(n = 9*)	(n = 9*)	
Evacuações/semana	6,8 ± 2,0	8,8 ± 2,9	0,008	8,4 ± 3,0	9,9 ± 3,5	0,048
Esforço (Likert 1-5)	2,1 ± 0,8	1,9 ± 0,8	0,391	2,0 ± 0,8	1,7 ± 0,8	0,143
Consistência (Bristol 1-7)	4,1 ± 0,8	4,3 ± 0,8	0,400	3,8 ± 0,8	3,8 ± 0,6	0,552

*Um participante foi excluído deste grupo pela ocorrência de diarreia aguda durante a fase basal. Tto= tratamento Tto F= tratamento com aumento de fibras. Tto FA= tratamento com aumento de fibras e água.

Qualidade de vida

Não houve diferença significativa em nenhum dos domínios comparando as etapas basal e tratamento (Tabela 7). O efeito de cada tratamento nos domínios também não diferiu entre os pacientes que receberam F e FA. O escore geral de qualidade de vida foi semelhante na comparação intra e intergrupos.

Tabela 7. Qualidade de vida dos participantes nas etapas basal e tratamento (Tto)

Domínios	Basal F	Tto F	p	Basal FA	Tto FA	p
Média ± dp	(n = 10)	(n=10)		(n = 9)	(n = 9)	
Físico	16,9 ± 0,8	16,7 ± 1,1	0,476	16,4 ± 1,7	16,2 ± 1,3	0,801
Psicológico	15,2 ± 1,9	14,9 ± 2,3	0,535	15,9 ± 1,6	16,2 ± 1,8	0,684
Relação social	14,7 ± 2,9	14,0 ± 3,0	0,398	16,0 ± 2,1	16,1 ± 2,9	0,999
Meio ambiente	14,4 ± 2,2	15,5 ± 1,9	0,692	13,8 ± 1,5	14,2 ± 1,5	0,431
Auto avaliação	14,8 ± 1,7	14,6 ± 2,1	0,726	15,8 ± 3,1	16,0 ± 2,2	0,728
Geral	15,3 ± 1,3	15,2 ± 1,5	0,518	15,4 ± 1,4	15,6 ± 0,9	0,701

Tto= tratamento Tto F= tratamento com aumento de fibras. Tto FA= tratamento com aumento de fibras e água

Características das fezes

Observamos um aumento significativo no peso bruto das fezes no grupo FA após o tratamento em comparação com a etapa basal, enquanto que o grupo F não diferiu entre basal e tratamento. O grupo FA também apresentou aumento significativo no percentual de água das fezes (e correspondente redução na matéria seca) após o tratamento. O percentual de água e matéria seca das fezes não foi modificado no grupo F. O pH fecal caiu numericamente em direção a neutralidade em ambos os grupos e na mesma magnitude, porém sem significância estatística na comparação intragrupo (Tabela 8).

Tabela 8. Características físicoquímicas das fezes

	Basal F	Tto F	p	Basal FA	Tto FA	p
Média ± dp	(n = 10)	(n=10)		(n = 9)	(n = 9)	
Peso bruto (g)	81,8 ± 62,5	96,2 ± 52,3	0,428	71,5 ± 44,5	126,1 ± 70,9	0,021
Água (%)	71 ± 6,4	73,5 ± 6	0,193	74,5 ± 5,6	78,4 ± 5,6	0,038
pH	7,7 ± 0,6	7,3 ± 0,5	0,130	7,7 ± 0,9	7,3 ± 0,5	0,080

Tto= tratamento Tto F= tratamento com aumento de fibras. Tto FA= tratamento com aumento de fibras e água.

Diurese

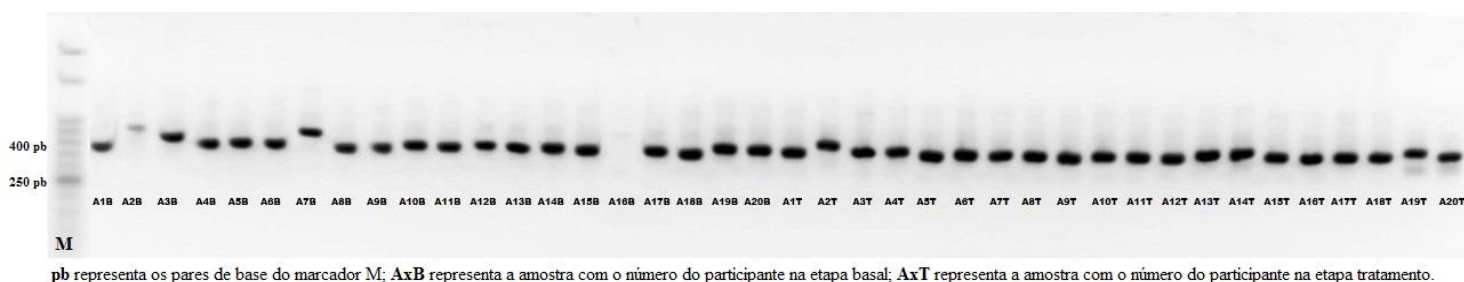
Na análise conjunta dos 19 participantes, a diurese basal subiu durante as etapas de tratamento (1126 ± 521 ml vs. 1403 ± 548 ml; p = 0,002). Na análise por grupo, os participantes que receberam apenas fibras apresentaram diurese semelhante entre as etapas basal e tratamento (1146 ± 461 ml vs. 1226 ± 514 ml; p = 0,353), enquanto que os participantes do grupo FA urinaram mais após o tratamento comparado ao basal (1104 ± 609 ml vs. 1567 ± 578 ml; p < 0,001).

Microbiota intestinal

As fotos dos géis de agarose para análise dos resultados estão exemplificadas na figura 2, que se refere à contagem de material genético referente ao grupo dos *Bacteroides e Prevotella*. Na análise dos 19 participantes conjuntamente, observamos alteração na microbiota intestinal após os tratamentos (Tabela 9). Ocorreu aumento significativo nas populações de bactérias do gênero dos *Bacteroides e Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bifidobacterium e Ruminococcus albus* após os tratamentos, enquanto que bactérias do gênero *Desulfovibrio* apresentaram redução em sua população. As demais bactérias analisados (*Eubacterias*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridiiforme*, *Enterobacteriaceae e Enterococcus faecalis*) não sofreram mudanças significativas em suas populações.

Na comparação entre os tratamentos F e FA, as alterações na microbiota foram mais evidentes no grupo tratado com fibra e água, onde observamos aumento significativo das populações de bactérias do gênero *Bacteroides e Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii e Bifidobacterium* em todos os participantes deste grupo. (Tabela 10). As bactérias do gênero *Desulfovibrio* tiveram suas populações reduzidas em ambos os tratamentos. No grupo F esta foi a única alteração significativa na microbiota intestinal.

Figura 2. Foto do gel de agarose referente às bactérias do grupo dos *Bacteroides e Prevotella*



pb representa os pares de base do marcador M; AxB representa a amostra com o número do participante na etapa basal; AxT representa a amostra com o número do participante na etapa tratamento.

Tabela 9. Microbiota intestinal nos 19 participantes

População bacteriana	Variação em função do Tratamento ^a			Nanogramas de DNA (Média ± SEM) ^b		Variação ^c	Valor de p
	Aumentou	Reduziu	Não alterou	Basal	Tratamentos		
Todas <i>Eubacterias</i>	52,6%	42,1%	5,3%	17±10	18±0,3	+ 1,06	0,3700
Grupo dos <i>Bacteroides</i> e <i>Prevotella</i>	89,5%	10,5%	0%	100±9,2	140±4,9*	+ 1,4	0,0008
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	84,2%	15,8%	0%	140±7,4	170±7,2*	+ 1,2	0,0013
Genero <i>Bifidobacterium</i>	76,7%	10,5%	15,8%	83±28	230±35*	+ 2,7	0,0037
<i>Ruminococcus albus</i>	68,4%	21,1%	10,5%	32±11	70±14*	+ 2,2	0,0375
<i>Clostridium butyricum</i>	57,9%	42,1%	0%	92±14	110±18	+ 1,2	0,4600
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	63,1%	31,6%	5,3%	30±4,0	37±3,0	+ 1,2	0,2093
<i>Enterobacteriaceae</i>	26,3%	42,1%	31,6%	140±33	110±27	- 0,3	0,4336
<i>Enterococcus faecalis</i>	42,1%	26,3%	31,6%	6,9±1,7	6,9±1,9	- 0,0	0,9805
Genero <i>Desulfovibrio</i>	21,0%	73,7%	5,3%	110±16	18±7,8*	- 6,1	0,0001

^a Os valores indicados representam o percentual de indivíduos (n = 19) em que ocorreu a alteração indicada. ^b Os valores indicados representam a quantidade média ± SEM de DNA obtido após a amplificação do DNA bacteriano por meio da PCR, de todos os indivíduos (n = 19), e é proporcional à quantidade de bactérias presentes nas fezes. ^c Variação refere-se ao aumento ou diminuição da quantidade de DNA (ng) em relação à quantidade presente na coleta basal. *Indica alteração significativa (análise estatística foi feita utilizando-se o teste não paramétrico Mann-Whitney U Test).

Tabela 10. Microbiota intestinal nos grupos fibras (F) e fibras mais água (FA)

População Bacteriana	Dieta													
	Fibras (n=10)							Fibra + Água (n=9)						
	Alteração (%) ^a			Nanogramas de DNA ^b (Média±SEM)				Alteração (%)			Nanogramas de DNA (Média±SEM)			
	↑	↓	n/a	Pré-dieta	Pós-dieta	Δ	p	↑	↓	n/a	Pré-dieta	Pós-dieta	Δ	p
Todas <i>Eubacterias</i>	50	40	10	16±1,9	18±0,4	1,1	0,6305	55	45	0	18±0,6	19±0,5	1,05	0,8633
<i>Bacteroides e Prevotella</i>	80	20	0	100±14	130±6	1,3	0,0753	100	0	0	96±12	150±6,8*	1,5	0,0019
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	70	30	0	150±8,9	160±12	1,06	0,5288	100	0	0	130±11	190±5,2*	1,5	0,0001
<i>Bifidobacterium</i> genus	50	20	30	110±45	200±51	1,8	0,2414	100	0	0	61±32	260±48*	4,3	0,0057
<i>Ruminococcus albus</i>	70	20	10	24±13	63±20	2,6	0,0996	67	22	11	41±18	78±20	1,9	0,1689
<i>Clostridium butyricum</i>	70	30	0	89±23	120±26	1,3	0,2729	45	55	0	95±17	91±25	0,0	1,000
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	50	40	10	33±4,7	33±4,8	0,0	0,9705	78	22	0	26±6,7	40±3,2	1,5	0,0939
<i>Enterobacteriaceae</i>	10	50	40	160±52	120±43	-0,2	0,5523	45	33	22	120±39	100±34	- 0,17	0,7889
<i>Enterococcus faecalis</i>	40	30	30	7.3±2,5	6.4±2,6	-0,1	0,9670	45	22	33	6.4±2,6	7.5±3	1,2	0,5439
Genero <i>Desulfovibrio</i>	20	70	10	120±23	17±12*	-7,0	0,0032	22	78	0	81±22	18±10*	-4,5	0,023

^a Os valores indicados representam o percentual de indivíduos naquela população em que ocorreu a alteração indicada. ^b Os valores indicados representam a quantidade média ± SEM de DNA obtido após a amplificação do DNA bacteriano por meio da PCR e é proporcional à população bacteriana presente nas fezes. Δ: significa alteração proporcional (aumento ou diminuição) da quantidade de DNA bacteriano presente na coleta após a dieta em relação à quantidade DNA presente na coleta pré-dieta. P; valores de P seguidos de asterisco indicam alteração significativa entre os valores obtidos dentro do grupo (teste não paramétrico Mann-Whitney U Test)

DISCUSSÃO

“Para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água por dia”. Esta recomendação é frequente na prática médica e nutricional, e popular entre leigos. No entanto, a literatura que aborda esta recomendação é escassa e controversa, particularmente em relação ao efeito do aumento na ingestão de fibras^{56, 57}. Segundo as DRIS, a quantidade de fibras que deve ser ingerida diariamente para adultos entre 19 e 50 anos é de 25 g para mulheres e 38 g para homens¹⁷. Os estudos Brasileiros sugerem que a ingestão de fibras pela população geral é abaixo do recomendado, tanto em adolescentes quanto em adultos⁵⁸⁻⁶⁰. Em concordância, a maioria dos nossos participantes ingeria menos de 50% da recomendação de fibras, mesmo tendo hábito intestinal considerado normal. A teoria mais aceita para explicar o benefício do aumento na ingestão de fibras e água no hábito intestinal é a capacidade das fibras em reter água no lúmen intestinal, aumentando o bolo fecal e estimulando o peristaltismo⁶¹. Presume-se que sem uma boa hidratação os efeitos benéficos das fibras seriam anulados. Potenciais fatores adicionais que podem influenciar na ação da fibra e da água a nível intestinal incluem microbiota, estado emocional, condições ambientais como temperatura e umidade, demais componentes da dieta, comorbidades e fármacos⁶². Com base nisso, decidimos realizar um estudo fisiológico para avaliar os efeitos do aumento da ingestão de fibras e água em indivíduos saudáveis. Acreditamos que os resultados do presente estudo poderão embasar pesquisas futuras em pacientes com alteração do hábito intestinal.

Os nossos achados foram: 1. Aproximadamente 2/3 dos voluntários sadios desenvolveram sintomas abdominais durante as etapas de tratamento, particularmente no grupo que usou apenas fibra; 2. A frequência evacuatória aumentou nos dois grupos de tratamento e esteve associada a urgência evacuatória no grupo F; 3. O peso bruto das fezes e percentual de água nas fezes aumentou somente no grupo tratado com fibra e água; 4. Os tratamentos ocasionaram alterações significativas nas populações da metade das bactérias estudadas. 5. Os

demais desfechos avaliados não diferiram entre os grupos, incluindo qualidade de vida, consistência subjetiva das fezes, esforço evacuatório e pH fecal. Como esperado, a diurese aumentou substancialmente no grupo que recebeu fibra e água.

A maioria dos participantes desenvolveu um ou mais sintomas abdominais nas etapas de tratamento. Os participantes que aumentaram apenas fibras desenvolveram mais sintomas que aqueles tratados com fibra e água (90% vs 44%; mid-P = 0,034). Os sintomas foram variados, incluindo desconforto abdominal, diarreia, constipação, distensão e urgência evacuatória. Este último tendeu ser mais comum no grupo tratado apenas com fibra. Podemos especular mecanismos para este achado: a presença de maior quantidade de fibra no lúmen intestinal teoricamente aumentou o volume de conteúdo luminal pela retenção de água e produção gasosa, provocando sintomas pela distensão abdominal⁶³. O hábito intestinal modificado para constipação ou diarreia pode ser explicado pela mudança no comportamento motor do trato gastrointestinal. Na prática clínica, é sabido que pacientes referem melhora intestinal logo após a introdução de fibras, porém alguns retornam ao basal poucos dias após, sugerindo que o intestino se adapta a mudança no conteúdo de fibras após um breve período de resposta⁶⁴. Estas modificações podem ter sido transitórias e justificadas pelo mecanismo de adaptação intestinal a um novo volume de fibras⁶⁵. As diferenças encontradas entre os grupos F e FA em relação a sintomas devem-se ao efeito da água na interação fibra-intestino. Estes mesmos efeitos poderiam ser diferentes se avaliados em pacientes com síndrome do intestinal irritável, indicando a necessidade de estudos adicionais. As queixas abdominais registradas pelos nossos participantes corroboram os estudos que mostram que adição de fibras pode gerar sintomas abdominais ao em vez de benefícios^{24, 66-68}. Salientamos que o volume de fibras atingido durante as etapas de tratamento dobrou e chegou próximo de 85% da recomendada pelas DRIS.

A frequência de evacuação aumentou em ambos os grupos de tratamento, particularmente no grupo tratado apenas com fibras. Neste grupo as evacuações mais frequentes foram acompanhadas de urgência evacuatória (60% dos participantes). Alguns ensaios clínicos mostraram aumento na frequência evacuatória após incremento no consumo de fibras^{69 66}. No entanto, em pacientes constipados, a melhor resposta intestinal ocorreu quando o aumento da ingestão de fibras foi acompanhado do aumento do consumo de água, em discordância com nossos achados⁵⁰. Porém, nosso estudo foi realizado em voluntários sadios, podendo explicar esta discrepância.

Na análise física observamos aumento no peso bruto das fezes e no percentual de água somente no grupo tratado com fibra e água. No período de tratamento os participantes ingeriram sachês com uma mistura de fibra solúvel (pectina), insolúvel (farelo de trigo), além de amido resistente (farinha de banana verde). Este último também pode ser considerado um prebiótico⁷⁰. O aumento isolado da ingestão de água parece não alterar o volume de evacuação de maneira significativa em voluntários saudáveis⁴⁸. Já a privação de líquidos parece reduzir o peso fecal e retardar a frequência de evacuações⁴⁷. Além disso, é sabido que o aumento no peso das fezes se dá de forma diferenciada de acordo com o tipo de fibra ingerido⁶¹. Fibras solúveis por si só não causam aumento no peso das fezes, porém se ingeridas com fibras insolúveis a proliferação bacteriana é mantida, ocasionando maior peso fecal pela excreção de bactérias mortas⁷¹. Fibras insolúveis como o farelo de trigo aumentam o peso das fezes pela presença da fibra intacta no bolo fecal, além de maior retenção de água nas fezes¹⁴. No nosso estudo ambos os grupos tiveram ingestão de fibras semelhantes durante o tratamento (83,7% no grupo F e 89,9 % no grupo FA), sem mudança substancial nos demais componentes da dieta, exceto o volume de água aumentado no grupo FA. Dessa forma o fato de ter ocorrido aumento significativo no peso das fezes apenas no grupo FA pode ser justificado pela presença de maior quantidade de água no lúmen intestinal, proporcionando

uma melhor utilização das fibras insolúveis ingeridas (farelo de trigo). Estudo recente em voluntários saudáveis testou o aumento da ingestão de grãos integrais e não observou mudança no peso fecal²³. Contudo, o estudo não controlou o volume de ingestão de água antes e durante a intervenção.

Quando analisados em conjunto, os tratamentos foram capazes de modificar a microbiota intestinal, aumentando significativamente o número de bactérias dos gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*, *Bifidobacterium* e também as bactérias das espécies *Faecalibacterium prausnitzii* e *Ruminococcus albus* e reduziram significativamente o número de bactérias do gênero *Desulfovibrio*. Analisando separadamente cada tratamento, observou-se maior número de alterações no grupo FA, onde 100% dos participantes aumentaram a população das seguintes bactérias: gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* e gênero *Bifidobacterium*, representando respectivamente os filos Bacteroidetes, Firmicutes e Actinobactéria. Destes, Bacteroidetes e Firmicutes são filos dominantes no intestino de adultos saudáveis⁷². O filo Actinobactéria pode ser relativamente abundante em alguns adultos, embora em menor proporção⁷³. É sabido que a microbiota intestinal em humanos saudáveis permanece relativamente estável dos 30 aos 70 anos de idade, reduzindo a população de *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii* e vários Firmicutes com o envelhecimento⁷⁴⁻⁷⁶. Esta redução está associada a mudanças na ingestão alimentar⁷⁷. Além disso, um menor número de bactérias do tipo *Faecalibacterium prausnitzii* está associado a inflamação crônica, como na doença de Crohn⁷⁸. Nossos resultados foram interessantes quanto ao aumento no número de bactérias benéficas, sendo que o maior aumento populacional observado ocorreu com bactérias do gênero *Bifidobacterium* (430% no grupo FA). É possível inferir que a diferença no aumento desta população bacteriana entre os tratamentos foi devido ao maior volume de água ingerido no grupo FA, proporcionando melhor utilização das fibras. Vaughan e colaboradores afirmam que em adultos saudáveis, as

Bifidobacterium representam apenas 3% das bactérias intestinais⁷⁹. Mesmo assim, diversos benefícios à saúde humana são proporcionados por elas, dentre os quais prevenção de doenças causadas por patógenos, proteção contra diarreia infecciosa, redução do colesterol sérico, melhora na digestão da lactose, efeitos imunoestimulantes e capacidade anticancerígena⁸⁰. Os efeitos benéficos citados ocorrem pela ação dos produtos da degradação microbiana anaeróbica sobre polissacarídeos, oligossacarídeos e proteínas da dieta, originando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Bifidobactérias produzem AGCC ao metabolizar carboidratos não digeríveis, como celulose e amido resistente, fibras estas que foram oferecidas aos participantes deste estudo, respectivamente no farelo de trigo e na farinha de banana verde^{40 81}.

Holscher e colaboradores mostraram que a adição de polidextrose ou fibra de milho solúvel na dieta alterou o número de bactérias já presentes na microbiota intestinal antes da intervenção⁸². Neste mesmo estudo houve aumento da relação Bacteroidetes/Firmicutes com ambas as fibras, porém redução de *Eubacterium* e *Bifidobacterium*, que são produtoras de butirato. Dentre os AGCC, butirato é tido como fonte principal de energia para células epiteliais do colón⁸¹. No presente estudo não houve alteração significativa nas *Eubacterium*, ao passo que observamos aumento no número populacional de *Bifidobacterium*, sugerindo que a combinação de fibras aqui utilizada pode ser superior às testadas por Holscher, ou que, em seu estudo, os participantes ingeriram pouca água (dado não mencionado).

As bactérias *Desulfovibrio*, quando analisamos todos os participantes, foram as que tiveram maior redução numérica (-610%). Em ambos os tratamentos a população de *Desulfovibrio* foi reduzida. Bactérias deste gênero são redutoras de sulfato sendo lactato o substrato mais utilizado por elas. Porém a oxidação de lactato se dá de forma incompleta até acetato e ocorre concomitantemente com redução de sulfato a sulfeto, tendo como produto sulfureto de hidrogênio. Ambos, acetato e sulfureto de hidrogênio, em concentrações elevadas, são

tóxicos, pró-inflamatórios, mutagênicos e cancerígenos às células epiteliais do intestino^{83 84}. Estudos associam aumento de bactérias redutoras de sulfato com doenças inflamatórias intestinais, incluindo o gênero *Desulfovibrio*, considerado assim um patógeno intestinal^{85 86}.⁸⁷ A redução desta bactéria aqui observada pode ter ocorrido devido ao grande aumento de bactérias probióticas, como a *Bifidobacterium*. No entanto, a redução do gênero *Desulfovibrio* também no grupo tratado apenas com fibra sugere outros mecanismos, como o efeito da própria fibra, uma vez que neste tratamento não observamos aumento de *Bifidobacterium*. Estudos adicionais são necessários para esclarecer estas interações.

Os demais desfechos avaliados não diferiram entre os grupos. Qualidade de vida pode não ter sido alterada devido a uma adaptação fisiológica à quantidade elevada de fibras, visto que o questionário foi aplicado após 14 dias de tratamento e os sintomas tiveram maior incidência na primeira semana. Outras explicações seriam o período curto de tratamento e o tamanho amostral reduzido. A ausência de efeito dos tratamentos na consistência das fezes e no esforço evacuatório pode ter ocorrido pela natureza subjetiva destas variáveis e também pelo número reduzido de participantes. Em contraste, o percentual de água nas fezes aumentou no grupo tratado com fibra e água e, como esperado, se manteve semelhante no grupo que recebeu apenas fibras. Traduzindo para a prática clínica, pacientes com constipação e queixa de fezes em cíbalos podem ter maior benefício com aumento no consumo de fibras combinado a maior ingestão de água, como demonstrado por Anti *et al*⁵⁰. De fato, estudos indicam que o incremento isolado na ingestão de fibras pode aumentar a frequência de evacuação, porém sem alteração na consistência das fezes⁵⁶. A análise do pH fecal mostrou discreta redução dos valores após o tratamento, o que pode ter sido causado pela produção de ácido lático e/ou de AGCC proveniente da fermentação bacteriana sobre as fibras. Dados semelhantes foram encontrados em outros estudos^{23, 56}.

Como esperado, a diurese aumentou substancialmente no grupo FA. Investigação recente mostrou que o aumento da ingestão de água provoca aumento agudo no volume urinário. No entanto, este aumento pode diferir conforme a velocidade de ingestão de água⁸⁸, variável esta que não foi aqui controlada.

Nosso estudo ajudou a mostrar a importância da ingestão combinada de fibras e água na função intestinal. Com base nos achados em voluntários saudáveis, podemos esperar que sintomas abdominais, em pacientes, possam ser amenizados quando uma maior oferta de fibras dietéticas é combinada com maior aporte hídrico. Alteração na consistência das fezes produzida pelo aumento do percentual de água fecal pode ser conseguida com aumento combinado de fibras e água, como sugerido no presente estudo. Por outro lado, sintomas abdominais também podem ocorrer com adição de fibras, isoladamente, com demonstrado aqui em indivíduos saudáveis. Os tratamentos alteraram a microbiota intestinal, sendo o tratamento com fibras e água mais eficaz. Assim, a recomendação “coma mais fibras e beba dois litros de água por dia” quando testada em indivíduos saudáveis melhorou a função intestinal, particularmente no grupo que aumentou fibras e água. Comparativamente, o grupo que aumentou somente fibras desenvolveu mais sintomas abdominais. O profissional de saúde deve considerar também os custos relacionados ao aumento das fibras na dieta, eventuais queixas quanto ao paladar, e o esforço em consumir mais água no dia a dia.

Reconhecemos algumas limitações em nosso estudo. A falta de um grupo tratado somente com aumento na ingestão de água pode ser justificada pelo maior volume de evidências de tal conduta na literatura. Estudos adicionais deverão testar tempos mais longos de tratamento, além de maior diversidade de fibras. Apesar de não controlado pela alta complexidade, estimamos que a ingestão de FODMAPs não foi modificada durante as etapas de tratamento, visto que os participantes foram instruídos a manter sua dieta normal, acrescida dos tratamentos que foram idênticos em relação às fibras utilizadas. Um instrumento de

verificação de ingestão de FODMAPs precisa ser desenvolvido para que essa variável seja fielmente controlada ou modificada em estudos futuros. Finalmente, ao estratificar os dados de microbiota em grupos de tratamentos, houve redução óbvia do tamanho da amostra e aumento da variabilidade dos dados, reduzindo o poder estatístico para a análise do efeito das intervenções nas populações bacterianas.

CONCLUSÕES

O aumento no consumo de fibras e água em voluntários sadios melhorou o hábito intestinal, mas foi acompanhado de sintomas abdominais, particularmente quando o aumento na ingestão de fibras não foi seguido por aumento no consumo de água. O efeito na microbiota também foi superior no grupo tratado com fibra e água. Assim, a recomendação “para seu intestino funcionar melhor consuma mais fibras e tome 2 litros de água por dia” é verdadeira em voluntários sadios. Estudos em pacientes com constipação e diarreia são necessários para testar tal recomendação.

PERSPECTIVAS

Devido à importância clínica do tema, esperamos que este estudo tenha continuidade e assim, possa ser testado em pacientes com constipação intestinal e outras queixas intestinais.

CRONOGRAMA 2014 – 2016

Atividades	Mar - Mai 2014	Jun -2014	Ago - Out 2014	Nov - Dez 2014	Fev - Jun 2015	Jul -Out 2015	Nov- Fev 2015	Mar - Abr 2016	Mai -Jun 2016
Revisão bibliográfica									
Elaboração do projeto									
Encaminhamento ao CEP									
Coleta de dados									
Análises dos dados									
Elaboração da dissertação									
Elaboração do artigo e defesa									

ORÇAMENTO

Materiais/ Procedimentos	Custo/unid (R\$)	Quant	Total (R\$)
Folha A4	20,00 (pacote)	2	40,00
Impressão*	0,15	640	96,00
Copo graduado*	3,00	20	60,00
Sacos plásticos estéreis*	460,00 (pacote)	1	460,00
Fibras para homens**	4,00	280	1120,00
Fibras para mulheres**	2,80	280	784,00
PCR***	3,00 (por amostra)	400	1200,00
Tubos de centrífuga (15 ml)	21,00 (pacote)	5	105,00
Tubos de centrifuga (50 ml)	23,00 (pacote)	5	115,00
Kits para extração de DNA de fezes*	1017,60	1	1017,60
Ponteiras com filtro para PCR (10 uL)	149,60 (pacote)	2	299,20
Ponteiras com filtro para PCR (100 uL)	149,60 (pacote)	2	299,20
Tubos Ependorff (1,5 mL)	35,00 (pacote)	4	140,00
Água mineral sem gás (1,5L)*	1,80	280	504,00
Água mineral sem gás (0,5L)*	0,80	280	224,00
Total			6464,00

*Pago pelos pesquisadores

**Patrocínio de 50% do valor pela farmácia Natupharma

*** Fornecido pelo Laboratório de Bioexperimentação da UPF

Todos os equipamentos necessários para as análises estavam disponíveis no Laboratório de Bioexperimentação da UPF.

REFERÊNCIAS

1. Thomson AB, Keelan M, Thiesen A, et al. Small bowel review: normal physiology part 1. *Dig Dis Sci* 2001;46:2567-87.
2. Palit S, Lunniss PJ, Scott SM. The physiology of human defecation. *Dig Dis Sci* 2012;57:1445-64.
3. Thomson AB, Drozdowski L, Iordache C, et al. Small bowel review: Normal physiology, part 2. *Dig Dis Sci* 2003;48:1565-81.
4. Thayalasekeran S, Ali H, Tsai HH. Novel therapies for constipation. *World J Gastroenterol* 2013;19:8247-51.
5. Lewis G, Rudolph CD. Practical approach to defecation disorders in children. *Pediatr Ann* 1997;26:260-8.
6. Gray JR. What is chronic constipation? Definition and diagnosis. *Can J Gastroenterol* 2011;25 Suppl B:7B-10B.
7. Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004;99:750-9.
8. Talley NJ. Definitions, epidemiology, and impact of chronic constipation. *Rev Gastroenterol Disord* 2004;4 Suppl 2:S3-S10.
9. Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, et al. Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3530-40.
10. Suares NC, Ford AC. Prevalence of, and risk factors for, chronic idiopathic constipation in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1582-91; quiz 1581, 1592.
11. Mugie SM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: a systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011;25:3-18.
12. Lembo A, Camilleri M. Chronic constipation. *N Engl J Med* 2003;349:1360-8.
13. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006;130:1377-90.
14. James SL, Muir JG, Curtis SL, et al. Dietary fibre: a roughage guide. *Intern Med J* 2003;33:291-6.
15. Carabin IG, Flamm WG. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999;30:268-82.
16. Harris PJ, Ferguson LR. Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis. *Mutat Res* 1999;443:95-110.
17. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1621-30.
18. Ministério da Saúde B. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. 2006.
19. Roberfroid MB, Van Loo JA, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998;128:11-9.
20. Lampe JW, Fredstrom SB, Slavin JL, et al. Sex differences in colonic function: a randomised trial. *Gut* 1993;34:531-6.
21. Preston DM, Lennard-Jones JE. Severe chronic constipation of young women: 'idiopathic slow transit constipation'. *Gut* 1986;27:41-8.
22. Campbell AJ, Busby WJ, Horwath CC. Factors associated with constipation in a community based sample of people aged 70 years and over. *J Epidemiol Community Health* 1993;47:23-6.

23. Ampatzoglou A, Atwal KK, Maidens CM, et al. Increased whole grain consumption does not affect blood biochemistry, body composition, or gut microbiology in healthy, low-habitual whole grain consumers. *J Nutr* 2015;145:215-21.
24. Ho KS, Tan CY, Mohd Daud MA, et al. Stopping or reducing dietary fiber intake reduces constipation and its associated symptoms. *World J Gastroenterol* 2012;18:4593-6.
25. Simren M. Diet as a therapy for irritable bowel syndrome: progress at last. *Gastroenterology* 2014;146:10-2.
26. Halmos EP, Power VA, Shepherd SJ, et al. A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2014;146:67-75 e5.
27. Staudacher HM, Whelan K, Irving PM, et al. Comparison of symptom response following advice for a diet low in fermentable carbohydrates (FODMAPs) versus standard dietary advice in patients with irritable bowel syndrome. *J Hum Nutr Diet* 2011;24:487-95.
28. Glise H, Hallerback B, Wiklund I. Quality of life: a reflection of symptoms and concerns. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;221:14-7.
29. Wiklund IK, Glise H. Quality of life in different gastrointestinal conditions. *Eur J Surg Suppl* 1998:56-61.
30. The World Health Organization Quality of Life Assessment (WHOQOL): development and general psychometric properties. *Soc Sci Med* 1998;46:1569-85.
31. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. The WHOQOL Group. *Psychol Med* 1998;28:551-8.
32. Fleck MP, Louzada S, Xavier M, et al. [Application of the Portuguese version of the instrument for the assessment of quality of life of the World Health Organization (WHOQOL-100)]. *Rev Saude Publica* 1999;33:198-205.
33. Fleck MP, Louzada S, Xavier M, et al. [Application of the Portuguese version of the abbreviated instrument of quality life WHOQOL-bref]. *Rev Saude Publica* 2000;34:178-83.
34. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc* 2014;89:107-14.
35. Kamada N, Nunez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology* 2014;146:1477-88.
36. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489:220-30.
37. Blumberg R, Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey. *Sci Transl Med* 2012;4:137rv7.
38. Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe* 2012;12:611-22.
39. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 2013;69:75-86.
40. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology* 2014;146:1449-58.
41. Albenberg LG, Wu GD. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology* 2014;146:1564-72.
42. Walker AW, Ince J, Duncan SH, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J* 2011;5:220-30.
43. Lane DJ, Pace B, Olsen GJ, et al. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:6955-9.
44. Benson JA, Jr. Simple chronic constipation: pathophysiology and management. *Postgrad Med* 1975;57:55-60.

45. Marshall JB. Chronic constipation in adults. How far should evaluation and treatment go? *Postgrad Med* 1990;88:49-51, 54, 57-9, 63.
46. Robson KM, Kiely DK, Lembo T. Development of constipation in nursing home residents. *Dis Colon Rectum* 2000;43:940-3.
47. Klauser AG, Beck A, Schindlbeck NE, et al. Low fluid intake lowers stool output in healthy male volunteers. *Z Gastroenterol* 1990;28:606-9.
48. Chung BD, Parekh U, Sellin JH. Effect of increased fluid intake on stool output in normal healthy volunteers. *J Clin Gastroenterol* 1999;28:29-32.
49. Arnaud MJ. Mild dehydration: a risk factor of constipation? *Eur J Clin Nutr* 2003;57 Suppl 2:S88-95.
50. Anti M, Pignataro G, Armuzzi A, et al. Water supplementation enhances the effect of high-fiber diet on stool frequency and laxative consumption in adult patients with functional constipation. *Hepatogastroenterology* 1998;45:727-32.
51. Haydt E. Dry matter determination of sheep feces and chicken chest meat with the traditional method and freeze drying REDVET Rev. electrón. vet. Volume 11. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040410.html> 2007.
52. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, et al. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:3575-81.
53. Tap J, Mondot S, Levenez F, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol* 2009;11:2574-84.
54. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, et al. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998;41:85-101.
55. Hwang Gene JT, Yang MC. An optimality theory for Mid p-values in 2 x 2 contingency tables *Statistica Sinica* 2001;11:807-826.
56. Yang J, Wang HP, Zhou L, et al. Effect of dietary fiber on constipation: a meta analysis. *World J Gastroenterol* 2012;18:7378-83.
57. Klosterbuer A, Roughead ZF, Slavin J. Benefits of dietary fiber in clinical nutrition. *Nutr Clin Pract* 2011;26:625-35.
58. Vitolo MR, Campagnolo PD, Gama CM. Factors associated with risk of low dietary fiber intake in adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2007;83:47-52.
59. Mattos LL, Martins IS. [Dietary fiber consumption in an adult population]. *Rev Saude Publica* 2000;34:50-5.
60. Neutzling MB, Araujo CL, Vieira Mde F, et al. [Frequency of high-fat and low-fiber diets among adolescents]. *Rev Saude Publica* 2007;41:336-42.
61. Slavin JL. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 2008;108:1716-31.
62. Martinez I, Lattimer JM, Hubach KL, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J* 2013;7:269-80.
63. Nyman M. Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. *Br J Nutr* 2002;87 Suppl 2:S163-8.
64. Haack VS, Chesters JG, Vollendorf NW, et al. Increasing amounts of dietary fiber provided by foods normalizes physiologic response of the large bowel without altering calcium balance or fecal steroid excretion. *Am J Clin Nutr* 1998;68:615-22.
65. Saibil F. Diarrhea due to fiber overload. *N Engl J Med* 1989;320:599.
66. Loening-Baucke V, Miele E, Staiano A. Fiber (glucomanan) is beneficial in the treatment of childhood constipation. *Pediatrics* 2004;113:e259-64.
67. Castillejo G, Bullo M, Anguera A, et al. A controlled, randomized, double-blind trial to evaluate the effect of a supplement of cocoa husk that is rich in dietary fiber on colonic transit in constipated pediatric patients. *Pediatrics* 2006;118:e641-8.

68. Chmielewska A, Horvath A, Dziechciarz P, et al. Glucomannan is not effective for the treatment of functional constipation in children: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Clin Nutr* 2011;30:462-8.
69. Badiali D, Corazziari E, Habib FI, et al. Effect of wheat bran in treatment of chronic nonorganic constipation. A double-blind controlled trial. *Dig Dis Sci* 1995;40:349-56.
70. Keenan MJ, Zhou J, Hegsted M, et al. Role of resistant starch in improving gut health, adiposity, and insulin resistance. *Adv Nutr* 2015;6:198-205.
71. Chen HL, Haack VS, Janecky CW, et al. Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:711-9.
72. Faust K, Sathirapongsasuti JF, Izard J, et al. Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *PLoS Comput Biol* 2012;8:e1002606.
73. Rajilic-Stojanovic M, Smidt H, de Vos WM. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environ Microbiol* 2007;9:2125-36.
74. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol* 2009;9:123.
75. Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 2010;5:e10667.
76. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 1:4586-91.
77. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012;488:178-84.
78. Hansen R, Russell RK, Reiff C, et al. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1913-22.
79. Vaughan EE, Heilig HG, Ben-Amor K, et al. Diversity, vitality and activities of intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria assessed by molecular approaches. *FEMS Microbiol Rev* 2005;29:477-90.
80. Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int J Food Microbiol* 2011;149:88-105.
81. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987;28:1221-7.
82. Holscher HD, Caporaso JG, Hooda S, et al. Fiber supplementation influences phylogenetic structure and functional capacity of the human intestinal microbiome: follow-up of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2015;101:55-64.
83. Rey FE, Gonzalez MD, Cheng J, et al. Metabolic niche of a prominent sulfate-reducing human gut bacterium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:13582-7.
84. Kushkevych VI. Etiological Role of Sulfate-Reducing Bacteria in the Development of Inflammatory Bowel Diseases and Ulcerative Colitis. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology* 2014;2:63-73.
85. Loubinoux J, Bronowicki JP, Pereira IA, et al. Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol* 2002;40:107-12.
86. Pitcher MC, Cummings JH. Hydrogen sulphide: a bacterial toxin in ulcerative colitis? *Gut* 1996;39:1-4.
87. Blachier F, Davila AM, Mimoun S, et al. Luminal sulfide and large intestine mucosa: friend or foe? *Amino Acids* 2010;39:335-47.
88. Shafiee MA, Charest AF, Cheema-Dhadli S, et al. Defining conditions that lead to the retention of water: the importance of the arterial sodium concentration. *Kidney Int* 2005;67:613-21.

ANEXOS

Anexo 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar da pesquisa intitulada “Para seu intestino funcionar melhor, coma mais fibras e tome 2 litros de água: quanto verdadeira é esta recomendação?”, realizada pelos pesquisadores Gissele Vargas da Rosa e Fernando Fornari. Você foi escolhido por ser uma pessoa que não possui doença aguda ou crônica, não apresenta problemas com o hábito intestinal, não passou por cirurgias gastrointestinais e não faz uso de fármacos ou laxantes.

Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com entidade vinculada.

O objetivo desta pesquisa é avaliar se o consumo de fibras e água conforme as recomendações nutricionais favorecem, pioram ou se não causam alterações no hábito intestinal de pessoas saudáveis.

A justificativa para este estudo é que uma quantidade elevada de fibras pode aumentar os sintomas gastrointestinais em pessoas saudáveis. Além disso, estudos recentes mostram que a ingestão elevada de água não interfere no número de evacuações ou na consistência das fezes. Nosso estudo se justifica porque iremos testar fibra e água conjuntamente e dar ênfase as discussões quanto a este assunto. Além disso, na prática clínica é comum pacientes queixarem-se de “estufamento abdominal” e este ser diminuído quando o paciente reduz a quantidade de fibra ingerida.

Ao aceitar participar você terá que registrar sua dieta habitual em um diário que será fornecido pelos pesquisadores. O registro deverá ser feito por 7 dias, de domingo à sábado, e é fundamental que você registre tudo que ingerir (alimentos sólidos, líquidos e água). Na terça-feira iremos entrar em contato com você para termos acesso às anotações do seu diário alimentar feitas até então. Buscaremos as anotações na quarta-feira pela manhã. Você deverá

seguir registrando sua dieta diariamente. Nós analisaremos os registros que tivermos acesso. Nesse momento você poderá ser excluído do estudo ou se manter nele. Entraremos em contato com você imediatamente caso você não possa mais participar. Durante esse período você também deverá registrar o horário das evacuações, o esforço evacuatório, a consistência das fezes. Para auxiliá-lo será fornecido material de apoio e suas dúvidas esclarecidas pelos pesquisadores. Permanecendo no estudo, você receberá instruções e embalagens próprias para efetuar a coleta de fezes e urina do último dia de registros, ou seja, sábado. No sétimo dia (sábado), você responderá a questionários sobre qualidade de vida e hábito intestinal. Estes questionários são de auto-resposta, ou seja, você poderá respondê-los em sua residência, com ou sem ajuda dos pesquisadores.

Após esse período você terá alguns dias de descanso, até iniciarmos a etapa 2 do estudo. Nesta etapa você deverá manter sua dieta habitual e ingerir sachês de fibras, preparados pela farmácia de manipulação Natupharma de Passo Fundo. Além disso, pelo sorteio, você poderá ter que manter sua ingestão habitual de água ou aumentá-la para 2litros ao dia (neste caso você receberá a água gratuitamente). O ingestão diária dos sachês e de água deverá ser seguida por dez dias consecutivos. Nesse período você deverá novamente registrar seu hábito intestinal e consistência das fezes, coletar todas as fezes e urina do último dia, além de responder os questionários de sintomas e de qualidade de vida (dia anterior ao tratamento, no sexto e décimo dia de tratamento).

Ao participar, os riscos para você serão mínimos. Poderá sentir desconforto abdominal ou alteração no hábito intestinal, que serão solucionados após o retorno para sua dieta habitual. Você poderá ser beneficiado(a) pela pesquisa no sentido de melhorar o funcionamento do seu intestino após o aumento do consumo de água e fibras. Você também estará ajudando a entender o efeito do aumento do consumo de água e de fibras no funcionamento do intestino humano.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais, isto é, só os pesquisadores saberão sobre o seus dados, sendo mantido sigilo sobre sua participação. Os seus dados não serão divulgados de modo que permitam a sua identificação.

Você não será recompensado(a) financeiramente pela sua participação.

Ao assinar este documento, você estará concordando em participar da pesquisa e que entendeu os objetivos, riscos e benefícios da sua participação e todas as informações que lhe foram prestadas pelos pesquisadores.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço dos pesquisadores, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa e sua participação, a qualquer momento.

Pesquisador:

Nome: Gissele Vargas da Rosa Gonçalves

Assinatura_____

Telefone: 54.84117693

Participante:

Nome_____

Assinatura_____

O presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi elaborado de acordo com a Res. CNS 196/96 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo.

O participante pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo pelo telefone (0xx54) 3316-8370.

Anexo 2: PROTOCOLO DE DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS (FORNARI & ROSA, 2013)

A. CHECK LIST CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DATA: ___/___/___

1. IDADE: ___ anos

2. DATA DE NASCIMENTO: ___/___/___

3. SEXO: (1) Masculino (2) Feminino

4. PESO: ___ Kg

5. ALTURA: ___ cm

6. IMC: _____

7. ESCOLARIDADE

(1) Ensino Fundamental Incompleto (2) Ensino Fundamental Completo

(3) Ensino Médio Incompleto

(4) Ensino Médio Completo

(5) Ensino Superior Incompleto

(6) Ensino Superior Completo

(7) Pós-graduação Incompleta

(8) Pós-graduação Completo

8. DOENÇAS CONCOMITANTES

8.1 Diabetes: (1) Sim (2) Não

8.2 Tireoideopatia: (1) Sim (2) Não

8.3 Cardiopatia: (1) Sim (2) Não

8.4 Insuficiência renal: (1) Sim (2) Não

8.5 Insuficiência hepática: (1) Sim (2) Não

8.6 Sangramento digestivo: (1) Sim (2) Não

8.7 Câncer: (1) Sim (2) Não

8.8 Outros:

9. MEDICAÇÕES

9.1 Uso de fármacos para tratamento de alguma doença? (1) Sim (2) Não

Se sim, qual?

9.2 Uso de enemas nos últimos 30 dias? (1) Sim (2) Não

9.3 Uso de fármacos que interfiram na microbiota ou motilidade intestinal, nos últimos 30 dias:

(1) Laxantes (medicamentos/ chás/ fibras) (1) Sim (2) Não, Se sim, qual?

(2) Antibióticos (1) Sim (2) Não, Se sim, qual?

(3) Procinéticos (Trimebutina, Pinaverio, Otilonio) (1) Sim (2) Não, Se sim, qual?

(4) Antidrepressivos (1) Sim (2) Não, Se sim, qual?

(5) Anti-hipertensivos (1) Sim (2) Não, Se sim, qual?

10. CIRURGIAS

10.1 Gastrectomia: (1) Sim (2) Não

10.2 Ressecção Intestinal: (1) Sim (2) Não

10.3 Outras: (1) Sim (2) Não Se sim, quais?

Apenas prossiga o preenchimento se o participante atendeu aos critérios de inclusão e exclusão e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido: (1) Sim (2) Não

B. ETAPA 1

DATA: ___/___/___

1. Nome do participante:

2. Nº do participante: ____

3. Telefones de contato:

4. Endereço:

5. E-mail:

6. Ocupação:

7. Preencheu o diário de ingestão alimentar corretamente: (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

8. Atingiu no máximo 50% da ingestão de fibras recomendada? (1) Sim (2) Não

9. Atingiu a ingestão máxima de 1L de água por dia? (1) Sim (2) Não

10. Realizou as coletas de fezes corretamente? (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

11. Realizou a coleta de urina corretamente? (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

C. ETAPA 2

DATA: ___/___/___

Nº do participante: _____

1. Peso: _____ Kg 2. CA: _____ 3. CQ: _____

4. Ingeriu os sachês conforme orientação: (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

5. Ingeriu a quantidade de água necessária ao experimento? (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

6. Respondeu aos questionários? (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

7. Realizou as coletas de fezes corretamente? (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

8. Realizou a coleta de urina corretamente: (1) Sim (2) Não

Se não, por quê?

Anexo 3: DIÁRIO DE REGISTRO ALIMENTAR (baseado em WILLETT et al., 1985; KRAUSE et al., 1991)

Por favor, preencha de acordo com as orientações dos pesquisadores.

	___/___/___ Dia da semana:	Medida caseira	Peso (se souber informar)
DESJEJUM			
	ÁGUA:		
LANCHE			
	ÁGUA:		
ALMOÇO			
	ÁGUA:		
LANCHE			
	ÁGUA:		
JANTAR			
	ÁGUA:		
CEIA			
	ÁGUA:		
AT. FÍSICA			
	ÁGUA:		

Anexo 4: DIÁRIO DE FREQUÊNCIA, CONSISTÊNCIA E ESFORÇO EVACUATÓRIO

Número do participante:				
Dias		Horário	Gradação do esforço	Gradação da consistência
1-Domingo	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
2-Segunda-feira	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
3-Terça-feira	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
4-Quarta-feira	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
5-Quinta-feira	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
6-Sexta-feira	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			
7- Sábado	1ª evacuação			
	2ª evacuação			
	3ª evacuação			

Em algum momento você teve mais de 3 evacuações? Por favor, relate o dia, horário, esforço e consistência.

Anexo 5: ESCALA PARA ESFORÇO EVACUATÓRIO

1	2	3	4	5
Nenhum esforço	Mínimo esforço	Esforço Médio	Esforço considerável	Esforço máximo

Anexo 6: FIGURA PARA ANÁLISE SUBJETIVA DA CONSISTÊNCIA DAS FEZES

ESCALA DE BRISTOL PARA CONSISTÊNCIA DAS FEZES

Tipo 01		Pedaços separados, duros como amendoim
Tipo 02		Forma de salsicha, mas segmentada
Tipo 03		Forma de salsicha, mas com fendas na superfície
Tipo 04		Forma de salsicha ou cobra, lisa e mole
Tipo 05		Pedaços moles, mas contornos nítidos
Tipo 06		Pedaços aerados, contornos esgarçados
Tipo 07		Aquosa, sem peças sólidas

Anexo 7: QUESTIONÁRIO PARA AVALIAÇÃO INTESTINAL

Número do participante:

Data do preenchimento:

Que problema intestinal você está tendo?

Constipação Diarreia Incontinência (perda de fezes)

Outros (descreva) _____

Você sente os seguintes sintomas?	SIM	NÃO
1. Constipação		
2. Diarreia		
3. Dificuldade em controlar gases		
4. Dor abdominal		
Se sim, onde está sua dor abdominal?		
5. Dor no reto/ânus		
6. Dor nas costas (lombar)		
Há quanto tempo você tem essa dor?		
7. Distensão abdominal/ "inchaço"		
8. Você sente urgência quando precisa evacuar?		
9. Quantas evacuações você tem por semana?		
10. Qual foi o maior tempo que ficou sem evacuar?		

Surgiu algum outro sintoma que não foi questionado ? Se sim, qual?

Anexo 8: WHOQOL- bref

Este questionário é sobre como você se sente a respeito de sua qualidade de vida, saúde e outras áreas de sua vida. **Por favor, responda a todas as questões.** Se você não tem certeza sobre que resposta dar em uma questão, por favor, escolha entre as alternativas a que lhe parece mais apropriada. Esta, muitas vezes, poderá ser sua primeira escolha. Por favor, tenha em mente seus valores, aspirações, prazeres e preocupações. Nós estamos perguntando o que você acha de sua vida, tomando como referência a **última semana**. Por exemplo, pensando na última semana, uma questão poderia ser:

	Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
Você recebe dos outros o apoio de que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número que melhor corresponde ao quanto você recebe dos outros o apoio de que necessita na última semana. Portanto, você deve circular o número 4 se você recebeu "muito" apoio como abaixo.

	Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
Você recebe dos outros o apoio de que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número 1 se você não recebeu "nada" de apoio.

Por favor, leia cada questão, veja o que você acha e circule no número e lhe parece a melhor resposta.

		Muito ruim	Ruim	Nem ruim, nem boa	Boa	Muito Boa
1	Como você avaliaria sua qualidade de vida?	1	2	3	4	5

		Muito insatisfeito	Insatisfeito	Nem satisfeito, nem insatisfeito	Satisfeito	Muito satisfeito
2	Quão satisfeito(a) você está com a sua saúde?	1	2	3	4	5

As questões seguintes são sobre **o quanto** você tem sentido algumas coisas nas última semana.

		Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
3	Em que medida você acha que sua dor (física) impede você de fazer o que você precisa?	1	2	3	4	5
4	O quanto você precisa de algum tratamento médico para levar sua vida diária?	1	2	3	4	5
5	O quanto você aproveita a vida?	1	2	3	4	5
6	Em que medida você acha que a sua vida tem sentido?	1	2	3	4	5

7	O quanto você consegue se concentrar?	1	2	3	4	5
8	Quão seguro(a) você se sente na sua vida diária?	1	2	3	4	5
9	Quão saudável é o seu ambiente físico (clima, barulho, poluição, atrativos)?	1	2	3	4	5

As questões seguintes perguntam sobre **quão completamente** você tem sentido ou é capaz de fazer certas coisas na última semana.

		Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
10	Você tem energia suficiente para seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5
11	Você é capaz de aceitar a sua aparência física?	1	2	3	4	5
12	Você tem dinheiro suficiente para satisfazer suas necessidades?	1	2	3	4	5
13	Quão disponíveis para você estão as informações que precisa no seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5
14	Em que medida você tem oportunidades de atividades de lazer?	1	2	3	4	5

As questões seguintes perguntam sobre **quão bem ou satisfeito** você se sentiu a respeito de vários aspectos de sua vida na última semana.

		Muito ruim	Ruim	Nem ruim, nem boa	Boa	Muito boa
15	Quão bem você é capaz de se locomover?	1	2	3	4	5

		Muito insatisfeito	Insatisfeito	Nem satisfeito, nem insatisfeito	Satisfeito	Muito satisfeito
16	Quão satisfeito(a) você está com o seu sono?	1	2	3	4	5
17	Quão satisfeito(a) você está com sua capacidade de desempenhar as atividades do seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5
18	Quão satisfeito(a) você está com a sua capacidade para o trabalho?	1	2	3	4	5
19	Quão satisfeito(a) você está consigo mesmo?	1	2	3	4	5
20	Quão satisfeito você está com suas relações pessoais (amigos, parentes, conhecidos, colegas)?	1	2	3	4	5

21	Quão satisfeito(a) você está com sua vida sexual?	1	2	3	4	5
22	Quão satisfeito(a) você está com o apoio que você recebe de seus amigos?	1	2	3	4	5
23	Quão satisfeito(a) você está com as condições do local onde mora?	1	2	3	4	5
24	Quão satisfeito(a) você está com o seu acesso aos serviços de saúde?	1	2	3	4	5
25	Quão satisfeito(a) você está com o seu meio de transporte?	1	2	3	4	5

As questões seguintes referem-se a **com que frequência** você sentiu ou experimentou certas coisas na última semana.

		Nunca	Algumas vezes	Frequentemente	Muito frequentemente	Sempre
26	Com que frequência você tem sentimentos negativos, tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão?	1	2	3	4	5

Alguém lhe ajudou a preencher este questionário?.....

Quanto tempo você levou para preencher este questionário?.....

Você tem algum comentário sobre o questionário?

OBRIGADO PELA SUA COLABORAÇÃO

Fiber and water improve bowel habit and stool microbiota in healthy subjects: a randomized clinical trial

Gissele Vargas da Rosa Gonçalves¹; Raíssa Canova³, Luiz Carlos Kreutz³; Rafael Frandoloso³; Fernando Fornari^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS; ²Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo-RS; ³Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UPF, Brazil.

Corresponding author: Fernando Fornari. Faculdade de Medicina, UPF, Rua Teixeira Soares, 817, Centro, Passo Fundo-RS, Brazil. CEP 99010080. Fone/fax: 55.54.33168554. Email:

FernandoFornari@gmail.com / FernandoFornari@upf.br

Short title: Fiber and water improve bowel health.

Clinicaltrial.gov identifier: NCT02838849

ABSTRACT

Background and aims: Changes in fiber and water intake can affect intestinal physiology. This simple concept supports the recommendation of increasing fiber and water ingestion to treat constipation. The aim of our study was to test whether such recommendation is true in healthy volunteers. **Methods:** In this open label clinical trial, 19 healthy participants had their basal characteristics determined (diet, bowel function and intestinal microbiota), followed by randomization for 14 days treatment with increased fiber consumption (group F) or increased fiber and water intake (group FW), with reassessment of the variables at the end. **Results:** Nineteen participants were analyzed (10 F and 9 FW). Most of them (68.4%) developed one or more abdominal symptoms during the treatments, particularly the group F as compared to FW (90% vs. 44%; $P = 0.034$). Both groups had increased number of evacuations per week (group F: 6.8 before vs 8.8 after; group FW: 8.4 vs 9.9; $P < 0.05$), whereas group FW had increased fecal weight (71.5 g vs 126 g; $P = 0.020$) and water percentage in feces (74.5% vs 78.4%; $P = 0.038$). Participants receiving FW had a significant increase in bacteria belonging to the *Bacteroides* and *Prevotella* genus, *Faecalibacterium prausnitzii* and *Bifidobacterium*, whereas both F and FW groups had a reduced number of bacteria belonging to the *Desulfovibrio* genus. **Conclusions:** In healthy volunteers, a higher intake of fiber and water improves

function but is accompanied by abdominal symptoms, particularly when the dietary fiber is introduced without changes in water intake. In addition, the intake of fiber and water affects the microbiome increasing the number of bacteria beneficial to gut health.

Keywords: Alimentary fiber; bowel habit; microbiota; water.

INTRODUCTION

The gastrointestinal tract is crucial to human homeostasis. Nutrient digestion and absorption are carried out by small bowel whereas water reabsorption and feces formation and elimination are performed by the large bowel^{1, 2}. In healthy individuals with regular bowel habits soft stools are eliminated without any discomfort. Changes in bowel habit are manifested by diarrhea or constipation, accompanied by abdominal complaints. Indeed, intestinal constipation reaches approximately 15% of adult Americans and is a major complain during medical appointments at the primary health care^{7, 8}. In this case, higher consumption of dietary fiber combined with higher water intake (e.g. 2 liter per day) is one of the most commonly recommended therapeutic approaches to treat constipation^{4, 14}.

Dietary fibers are complex carbohydrates that resist to hydrolysis by digestive enzymes. They are found as soluble and insoluble molecules and are processed at different intestinal segments¹⁴⁻¹⁶. The ingestion of both soluble and insoluble fibers is indicated to promote healthy fermentation and fecal formation in the colonic lumen. According to the Dietary Reference Intakes (DRIS) a daily fiber ingestion varies from 25 g for women and 38 g for men¹⁷. The major benefits promoted by fiber consumption are related to feces formation and bowel transit, but low fiber intake may not be necessarily associated with constipation^{21, 22}. In fact, constipated patients may actually improve their bowel habit with reduction of fiber intake²⁴.

The increased consumption of dietary fiber has been associated with changes in bowel microbiota. In healthy individuals the microbiota is formed by more than a thousand species of bacteria, which participate actively in healthy and illness^{36, 37}. To promote bowel homeostasis, the microbiota should be diverse and abundant, constituted mainly by the phylos *Firmicutes*, *Bacteroidetes* and *Actinobacteria*, combined with other factors acting to keep the integrity of intestinal barrier³⁸. Dietary changes can quickly modify the gut microbiota⁴², therefore dietary consultation is recommended to optimize fiber intake.

Bowel functioning improves with daily intake of at least 2 liters of water¹⁴. After one week of lower water intake evacuation frequency and stool weight decreases⁴⁷. In contrast, an increase in fluid intake either water or isotonic fluids does not alter substantially the stool volume⁴⁸. To date, most studies on bowel constipation have assessed the effect of water or fiber solely. However, a study addressed the combined action of water and fiber in patients with constipation and chronic use of laxatives⁵⁰, with improvement of bowel habit in patients treated with fiber and water.

Here, we aimed to test the recommendation "for your intestines work better, eat more fiber and take 2 liter of water a day" in the following outcomes: abdominal symptoms, frequency of defecation, stool consistency, physical and chemical characteristics of the stool and changes in intestinal microbiota.

METHODS

Participants

In this open-label, randomized, parallel groups clinical trial, twenty healthy volunteers were recruited through posters displayed at local medical centers. Participants were studied at Universidade de Passo Fundo. Inclusion criteria were: age between 19 and 50 years, both sexes, body mass index (BMI) between 18.5 and 29.9 kg/m², and absence of abdominal symptoms. Exclusion criteria were: use of medications that interfere with the gastrointestinal tract function and record of abdominal surgery or any acute or chronic disease. The study was approved by the local Ethical Committee (CAAE: 32307214.4.0000.5342) and all participants signed an informed consent before entry in the study.

Experimental use of fiber and water

Participants recorded their baseline consumption of fiber, water and FODMAPs in a food diary (baseline phase). The study included those who had reached no more than 50% of the fiber recommendation intake and drank no more than 1L of water per day. In the treatment phase, they were randomized to ingest the supplement containing fibers (Table 1), and maintain water intake (10 participants, F group) or increase the volume of water (10 participants, FW group). The FW group received mineral water and ingested 2 liters daily for 14 days. In the last three days of the treatment phase the participants registered again the food and liquid intake compared with the baseline phase. Randomization was performed using computerized generator program, with number offered to the participants in a brown envelope. All steps of randomization and allocations were carried out by GVRG

Study protocol

Demographic and clinical data were collected and recorded in the first interview after signing the informed consent. The protocol was composed of two phases (Figure 1). A 7 days baseline phase in

which participants reported their usual diet on a food diary in the first 3 days, between Sunday and Tuesday. Nutrient intake was estimated using ADS nutri software (UFPEL, Pelotas, Brazil). Participants approved in the baseline phase were then randomized to the second 14 days phase composed of F and FW groups. During this period participants were asked to report their intestinal habits including bowel movements, graduation of straining and subjective stool consistency. Participants were instructed to rank straining using a Likert scale from 1 (minimum) to 5 (maximum), and the Bristol scale for stool consistency. In the last day of treatment phase (Saturday) participants collected feces and urine of 24 hours, and responded a symptoms questionnaire. Food and liquid intake were recorded during the last 3 days of treatment for comparison with the baseline phase stage.

Primary outcomes were abdominal symptoms and bowel habit, whereas secondary outcomes were physical-chemical characteristics of feces, diuresis and intestinal microbiota.

Feces and urine assessment

Feces were collected in sterile plastic bags, stored in Styrofoam boxes containing chemical ice and analyzed within 3 hours. At the laboratory, feces were then processed for physical, chemical and microbiological analyzes, as follows:

1. Physical: the gross weight was measured with a precision scale. After that, a sample of 30 g on average was taken to evaluate the dry content by drying at 55 °C for 72 h in an oven with forced air circulation⁵¹.
2. Chemical: fecal pH was measured using a potentiometer. For this, 1 g of stool was diluted into 9 ml of miliQ water and properly homogenized with the aid of a vortex.
3. Microbiota analysis by Polymerase Chain Reaction (PCR): the presence of specific populations of bacteria in feces was estimated by qualitative PCR. DNA was extracted using commercial kit ((Norgen Biotek Corporation, Ontario, Canada), according to guidelines set by the manufacturer. DNA concentration was measured (ng / l) in nanoespectrofotometer and frozen at -20°C. For PCR,

we used primers specific for the 16S gene of the following bacteria: *All eubacteria* group of bacteria (genus) *Bacteroides* and *Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, genus *Bifidobacterium*, *Ruminococcus albus*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridiiforme*, bacteria of the *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, and genus *Desulfovibrio*⁵²⁻⁵⁴. DNA fragments were analyzed by 1% agarose gels and the amount of DNA in each band was quantified using Amersham Imager 600. Molecular weight markers (50 ng/band) were used to estimate DNA fragment size and concentration.

Urine of 24 h was collected in specific collector with 2L capacity, in both baseline and treatment phases.

Statistical analysis

Quantitative data were presented using mean \pm standard deviation or standard error of the mean. Qualitative data was expressed as absolute frequency and percentage. Chi-square and t test were applied when appropriate. Statistical analyzes were performed using the software Graph Prism 4.0 and Winpepi, and used $P < 5\%$ as indicative of statistical significance.

Sample size was estimated at 20 participants (10 each arm), expecting a decrease of 12 hours in the interval between stool passage, considering 1 bowel movement each 2 days as the baseline (expected standard deviation 12 hours, with alpha of 5% and power of 80%).

RESULTS

Participants

Twenty-one healthy volunteers started the baseline phase of the study. Two participants were excluded after this phase due to high fiber intake and acute diarrhea. The final analysis was therefore conducted with data from 19 participants: 10 of group F and 9 of group FW. No significant difference was observed between these groups in terms of sex (women: 50% vs. 55%; $P = 0.999$), age (31.3 ± 6.3 vs. 30 ± 7 ; $P = 0.677$) and BMI (24.2 ± 4 vs. 22.7 ± 2.3 ; $P = 0.339$). Period of data collection was between July and December 2015.

Intake of fibers and liquids

Fiber consumption during the baseline phase was similar between groups F and FW, with approximately 40% of the recommended by DRIS¹⁷. This amount of fibers doubled during the treatment phases in both F and FW groups, reaching 85% of the recommendation (Table 2). Intake of water did not differ between groups in the baseline phase, but was significantly higher in the FW group as compared to F group during the treatments, as expected by the allocation criteria. The ingestion of liquids other than water was similar at baseline and decreased during the treatments in the FW group as compared to F group. Overall intake of liquids (water + others) was stable in F group during the study phases and doubled in the FW group during the treatment as compared to baseline phase.

Abdominal symptoms and bowel habit

No participant reported symptoms during the 7 days of the baseline phase. Amongst the 19 healthy volunteers, 13 (68.4%) developed abdominal symptoms during the treatment phases: two presented constipation (10.5%: one participant from F and one from FW), four reported diarrhea (21%: all from group F), five complained of abdominal pain (26%: four from group F and one from group FW), seven reported abdominal distension (37%: four from group F and three from FW), and 8

complained of defecation urgency (42%: six from group F and two from group FW). Amongst 10 participants who received only fibers 9 (90%) experienced at least one abdominal symptom, as compared to 4 out of 9 (44%) treated with fiber and water (mid-P = 0.034).

Participants of both groups showed a significant increase in the number of bowel movements per week during the treatment phases as compared to baseline (Table 3). Straining and stool consistency did not differ significantly between baseline and treatment phases. When all 19 participants were analyzed as one group, the average number of bowel movements at baseline was 7.6 per week, rising to 9.3 during the treatments ($p < 0.001$).

Stool characteristics and diuresis

Participants of the FW group showed a significant increase in both fecal crude weight and percentage of water in the stools during the treatment as compared to baseline (Table 4), whereas participants of the F group had no changes in these parameters. Fecal pH did not differ significantly either in FW or F during treatments.

Diuresis in milliliters increased in participants of the FW group during treatment as compared to baseline (1104 ± 609 vs. 1567 ± 578 ; $P < 0.001$), and remained stable in group F during baseline and treatment (1146 ± 461 vs. 1226 ± 514 ml; $P = 0.353$).

Intestinal microbiota

In the analysis of the 19 participants altogether, changes were observed in the intestinal microbiota after the treatments. There was a significant increase in the populations of bacteria from the *Bacteroides* and *Prevotella* genus (+1.4; $P < 0.001$), *Faecalibacterium prausnitzii* (+1.2; $P = 0.001$), *Bifidobacterium* genus (+2.7; $P = 0.004$) and *Ruminococcus albus* (+2.2; $P = 0.038$) after treatments, while bacteria from the *Desulfovibrio* genus decreased in number (-6.1; $P < 0.001$).

The comparisons between F and FW groups also revealed changes in the microbiota, which were more evident in the FW group (Table 5). This group presented a markedly increase in the amount of

bacteria from the genus *Bacteroides*, *Prevotella* and *Bifidobacterium*, and *Faecalibacterium prausnitzii*, reaching all participants of FW group. Bacteria from the *Desulfovibrio* genus were reduced in both F and FW groups after treatments. This was the only change in microbiota observed in group F.

DISCUSSION

The purpose of our study was to test whether the recommendation “For your intestine work better, eat more fiber and drink 2 liters of water a day” is true for healthy volunteers. We found that increased consumption of fiber provoked abdominal symptoms in most healthy volunteers, particularly in whom fiber change was not accompanied by higher water intake. Fiber may act in the intestinal lumen by increasing fecal volume, as well as gas production, thereby distending the bowel and provoking symptoms⁶³. Healthy volunteers complained of abdominal pain, fullness, back pain and changes in bowel habit, including diarrhea and constipation. These latter two conditions might be related to changes in bowel motility due to higher fiber content in the intestines⁶⁴, as here demonstrated with an increase in bowel movements per week. Longer studies are needed to assess whether such symptoms are permanent or transient, that the bowel may adapt over time during changes in the diet⁶⁵. The predominance of symptoms in participants who received fiber compared to those receiving fiber and water might be explained by the effect of water and its interaction with fibers in the intestinal lumen. These findings support the eventual occurrence of abdominal symptoms in patients treated with fiber^{24, 66, 68}.

Bowel movements increased in both groups but were more pronounced in those treated with fibers only. A substantial number of healthy volunteers treated with fibers also complained of defecation urgency. Recent clinical trials indicated that increased consumption of fibers accelerates the evacuation frequency^{66, 69}. However, the best response occurred in patients with constipation in whom increased fiber intake was followed by increased water consumption, contrasting with our results⁵⁰. In our study, no change was observed regarding fecal consistency and straining. It has been shown that a diet rich in fiber may increase bowel movements without modifications in fecal consistency⁵⁶.

Physical analysis of feces from baseline and treatment samples revealed augmentation in both fecal crude weight and percentage of water, limited to the group FW. It has been reported that the isolate increase in water intake does not modify fecal volume in healthy volunteers⁴⁸, and liquid deprivation reduces fecal weight and delay bowel movements⁴⁷. Furthermore, changes in fecal weight may be influenced by the quality of ingested fiber⁶¹. A diet restricted to soluble fibers does not increase fecal volume, unless combined with insoluble fibers. Such combination might stimulate bacterial proliferation in the intestinal microbiota, increasing the weight of the stool excretion of dead bacteria⁷¹. Insoluble fibers such as wheat bran also rises stool volume by its resistance to digestion, exerting osmotic retention of water in the bowel lumen¹⁴. Our healthy volunteers were treated with a mix of soluble (pectin) and insoluble (wheat bran) fibers, reaching nearly 90% of DRIS recommendation for healthy fiber intake, maintaining their habitual diet except water intake that was substantially increased in FW group. Favorable results from FW group as compared to F group might be explained by optimization of fibers effect in combination with water in the intestinal physiology. In agreement, a recent study in healthy volunteers tested the increased consumption of whole grains without changes in liquid intake and found no change in stool weight²³.

We also observed a slight pH drop in feces (~ 0.5 unit) after treatment with fibers, regardless of water change. Although discreet, fecal acidification due to colonic fermentation of fibers might be beneficial to intestinal physiology with the production of short chain fatty acids, which are essential nutrients for the colonocytes^{23, 56}. As expected, participants treated with fiber and water increased their urine output as compared to baseline. Nevertheless, the percentage of water in feces also increased in this group, dispelling the belief that ingested water becomes only urine.

To date, few studies have addressed the effect of changes in fiber and water intake in the intestinal microbiota. In healthy volunteers, most modifications in bacteria populations

occurred in the FW group. In this group, all participants showed proliferation of the following bacteria: genus *Bacteroides* and *Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* and genus *Bifidobacterium*, representing respectively the phylum *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Actinobacteria*. Amongst these, *Bacteroidetes* and *Firmicutes* are the dominant phylum in healthy individuals⁷². The phylum *Actinobacteria* has also been found abundant, but in a lower proportion of adults⁷³. It is known that *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii* and several *Firmicutes* are stable during decades in healthy adults, but reduce in number with changes in diet related to the ageing process^{75, 76}. Furthermore, other bacteria usually in lower counting such as *Faecalibacterium prausnitzii* may participate in conditions of chronic inflammation, as observed in patients with Crohn's disease⁷⁸. Our results suggest that higher intake of fiber and water is healthy to the bowel microbiota, since the number of beneficial bacteria such as *Bifidobacterium* genus was markedly increased (430% in group FW). Although *Bifidobacterium* comprise only 3% of intestinal bacteria in healthy adult⁷⁹, they produce short chain fatty acids, resulting from metabolizing of non-digested carbohydrates, including cellulose and resistant starch⁸⁰. These carbohydrates were provided for our healthy volunteers, found respectively in wheat bran and green banana flour^{40, 81}.

The addition of polydextrose or soluble corn fiber affect the number of bacteria present in the intestinal microbiota, and increases the *Bacteroidetes:Firmicutes* ratio after inclusion of both fibers in the diet⁸². However, a decrease in butyrate-producing bacteria such as *Eubacterias* and *Bifidobacterias* might be observed. Amongst the SCFA, butyrate is considered the main source of energy to epithelial cells of the colon⁸¹. In our study there was no significant change in the population of *Eubacterium* genus, while we observed an increase in the number of bacteria from the *Bifidobacterium* genus, suggesting that the combination of fibers here tested can be superior to that tested by Holscher *et al*⁸². Another hypothesis is that their participants drank less water (data on water intake not found) compared to our study.

Analyzing our healthy volunteers, bacteria from the *Desulfovibrio* genus showed the greatest reduction (-610%) in the population. *Desulfovibrio spp* are sulfate-reducing, which participates in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases, being therefore considered an intestinal pathogen.^{85, 87} The inhibition of these bacteria may be due to proliferation of probiotic bacteria such as those belonging to the *Bifidobacterium* genus. However, this does not explain the reduction of the genus *Desulfovibrio* observed in group F, suggesting other mechanisms such as the effect of fiber in the microbiota. More studies are needed to explain these interactions.

In conclusion, increasing consumption of fiber and water in healthy volunteers improved bowel habits. However, it provoked abdominal symptoms, particularly when the increase in fiber consumption was not accompanied by an increase in water intake. A beneficial effect on the intestinal microbiota was markedly in FW group. Thus, the recommendation "For your intestine work better, eat more fiber and drink 2 liters of water a day" is true in healthy volunteers. More studies are needed to test the effects and potential benefits in patients with constipation and diarrhea.

ACKNOWLEDGMENTS

Competing interests: the authors declare no conflict of interests.

Author contribution: The contribution of the authors was as follows: 1 - Designing the study; 2 - Collecting, analyzing, and interpreting the data; 3 - Writing the report; 4- Making the decision to submit for publication: GVRG: 1,2,3,4 / RC: 2,3,4 / LCK: 1,2,3,4 / RF: 3,4 / FF: 1,2,3,4.

Guarantor of the study: Fernando Fornari

Funding: This study was supported by Universidade de Passo Fundo and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

REFERENCES

1. Thomson AB, Keelan M, Thiesen A, et al. Small bowel review: normal physiology part 1. *Dig Dis Sci* 2001;46:2567-87.
2. Palit S, Lunniss PJ, Scott SM. The physiology of human defecation. *Dig Dis Sci* 2012;57:1445-64.
3. Thomson AB, Drozdowski L, Iordache C, et al. Small bowel review: Normal physiology, part 2. *Dig Dis Sci* 2003;48:1565-81.
4. Thayalasekeran S, Ali H, Tsai HH. Novel therapies for constipation. *World J Gastroenterol* 2013;19:8247-51.
5. Lewis G, Rudolph CD. Practical approach to defecation disorders in children. *Pediatr Ann* 1997;26:260-8.
6. Gray JR. What is chronic constipation? Definition and diagnosis. *Can J Gastroenterol* 2011;25 Suppl B:7B-10B.
7. Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004;99:750-9.
8. Talley NJ. Definitions, epidemiology, and impact of chronic constipation. *Rev Gastroenterol Disord* 2004;4 Suppl 2:S3-S10.
9. Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, et al. Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3530-40.
10. Suares NC, Ford AC. Prevalence of, and risk factors for, chronic idiopathic constipation in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1582-91; quiz 1581, 1592.
11. Mugie SM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: a systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011;25:3-18.
12. Lembo A, Camilleri M. Chronic constipation. *N Engl J Med* 2003;349:1360-8.
13. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006;130:1377-90.
14. James SL, Muir JG, Curtis SL, et al. Dietary fibre: a roughage guide. *Intern Med J* 2003;33:291-6.
15. Carabin IG, Flamm WG. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999;30:268-82.
16. Harris PJ, Ferguson LR. Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis. *Mutat Res* 1999;443:95-110.
17. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1621-30.
18. Ministério da Saúde B. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. 2006.
19. Roberfroid MB, Van Loo JA, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 1998;128:11-9.
20. Lampe JW, Fredstrom SB, Slavin JL, et al. Sex differences in colonic function: a randomised trial. *Gut* 1993;34:531-6.
21. Preston DM, Lennard-Jones JE. Severe chronic constipation of young women: 'idiopathic slow transit constipation'. *Gut* 1986;27:41-8.

22. Campbell AJ, Busby WJ, Horwath CC. Factors associated with constipation in a community based sample of people aged 70 years and over. *J Epidemiol Community Health* 1993;47:23-6.
23. Ampatzoglou A, Atwal KK, Maidens CM, et al. Increased whole grain consumption does not affect blood biochemistry, body composition, or gut microbiology in healthy, low-habitual whole grain consumers. *J Nutr* 2015;145:215-21.
24. Ho KS, Tan CY, Mohd Daud MA, et al. Stopping or reducing dietary fiber intake reduces constipation and its associated symptoms. *World J Gastroenterol* 2012;18:4593-6.
25. Simren M. Diet as a therapy for irritable bowel syndrome: progress at last. *Gastroenterology* 2014;146:10-2.
26. Halmos EP, Power VA, Shepherd SJ, et al. A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2014;146:67-75 e5.
27. Staudacher HM, Whelan K, Irving PM, et al. Comparison of symptom response following advice for a diet low in fermentable carbohydrates (FODMAPs) versus standard dietary advice in patients with irritable bowel syndrome. *J Hum Nutr Diet* 2011;24:487-95.
28. Glise H, Hallerback B, Wiklund I. Quality of life: a reflection of symptoms and concerns. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;221:14-7.
29. Wiklund IK, Glise H. Quality of life in different gastrointestinal conditions. *Eur J Surg Suppl* 1998:56-61.
30. The World Health Organization Quality of Life Assessment (WHOQOL): development and general psychometric properties. *Soc Sci Med* 1998;46:1569-85.
31. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. The WHOQOL Group. *Psychol Med* 1998;28:551-8.
32. Fleck MP, Louzada S, Xavier M, et al. [Application of the Portuguese version of the instrument for the assessment of quality of life of the World Health Organization (WHOQOL-100)]. *Rev Saude Publica* 1999;33:198-205.
33. Fleck MP, Louzada S, Xavier M, et al. [Application of the Portuguese version of the abbreviated instrument of quality life WHOQOL-bref]. *Rev Saude Publica* 2000;34:178-83.
34. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc* 2014;89:107-14.
35. Kamada N, Nunez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology* 2014;146:1477-88.
36. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489:220-30.
37. Blumberg R, Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey. *Sci Transl Med* 2012;4:137rv7.
38. Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe* 2012;12:611-22.
39. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 2013;69:75-86.
40. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology* 2014;146:1449-58.
41. Albenberg LG, Wu GD. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology* 2014;146:1564-72.

42. Walker AW, Ince J, Duncan SH, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J* 2011;5:220-30.
43. Lane DJ, Pace B, Olsen GJ, et al. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:6955-9.
44. Benson JA, Jr. Simple chronic constipation: pathophysiology and management. *Postgrad Med* 1975;57:55-60.
45. Marshall JB. Chronic constipation in adults. How far should evaluation and treatment go? *Postgrad Med* 1990;88:49-51, 54, 57-9, 63.
46. Robson KM, Kiely DK, Lembo T. Development of constipation in nursing home residents. *Dis Colon Rectum* 2000;43:940-3.
47. Klauser AG, Beck A, Schindlbeck NE, et al. Low fluid intake lowers stool output in healthy male volunteers. *Z Gastroenterol* 1990;28:606-9.
48. Chung BD, Parekh U, Sellin JH. Effect of increased fluid intake on stool output in normal healthy volunteers. *J Clin Gastroenterol* 1999;28:29-32.
49. Arnaud MJ. Mild dehydration: a risk factor of constipation? *Eur J Clin Nutr* 2003;57 Suppl 2:S88-95.
50. Anti M, Pignataro G, Armuzzi A, et al. Water supplementation enhances the effect of high-fiber diet on stool frequency and laxative consumption in adult patients with functional constipation. *Hepatogastroenterology* 1998;45:727-32.
51. Haydt E. Dry matter determination of sheep feces and chicken chest meat with the traditional method and freeze drying REDVET Rev. electrón. vet. Volume 11. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040410.html> 2007.
52. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, et al. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:3575-81.
53. Tap J, Mondot S, Levenez F, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol* 2009;11:2574-84.
54. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, et al. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998;41:85-101.
55. Hwang Gene JT, Yang MC. An optimality theory for Mid p-values in 2 x 2 contingency tables *Statistica Sinica* 2001;11:807-826.
56. Yang J, Wang HP, Zhou L, et al. Effect of dietary fiber on constipation: a meta analysis. *World J Gastroenterol* 2012;18:7378-83.
57. Klosterbuer A, Roughead ZF, Slavin J. Benefits of dietary fiber in clinical nutrition. *Nutr Clin Pract* 2011;26:625-35.
58. Vitolo MR, Campagnolo PD, Gama CM. Factors associated with risk of low dietary fiber intake in adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2007;83:47-52.
59. Mattos LL, Martins IS. [Dietary fiber consumption in an adult population]. *Rev Saude Publica* 2000;34:50-5.
60. Neutzling MB, Araujo CL, Vieira Mde F, et al. [Frequency of high-fat and low-fiber diets among adolescents]. *Rev Saude Publica* 2007;41:336-42.
61. Slavin JL. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 2008;108:1716-31.
62. Martinez I, Lattimer JM, Hubach KL, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J* 2013;7:269-80.
63. Nyman M. Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. *Br J Nutr* 2002;87 Suppl 2:S163-8.

64. Haack VS, Chesters JG, Vollendorf NW, et al. Increasing amounts of dietary fiber provided by foods normalizes physiologic response of the large bowel without altering calcium balance or fecal steroid excretion. *Am J Clin Nutr* 1998;68:615-22.
65. Saibil F. Diarrhea due to fiber overload. *N Engl J Med* 1989;320:599.
66. Loening-Baucke V, Miele E, Staiano A. Fiber (glucomannan) is beneficial in the treatment of childhood constipation. *Pediatrics* 2004;113:e259-64.
67. Castillejo G, Bullo M, Anguera A, et al. A controlled, randomized, double-blind trial to evaluate the effect of a supplement of cocoa husk that is rich in dietary fiber on colonic transit in constipated pediatric patients. *Pediatrics* 2006;118:e641-8.
68. Chmielewska A, Horvath A, Dziechciarz P, et al. Glucomannan is not effective for the treatment of functional constipation in children: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Clin Nutr* 2011;30:462-8.
69. Badiali D, Corazziari E, Habib FI, et al. Effect of wheat bran in treatment of chronic nonorganic constipation. A double-blind controlled trial. *Dig Dis Sci* 1995;40:349-56.
70. Keenan MJ, Zhou J, Hegsted M, et al. Role of resistant starch in improving gut health, adiposity, and insulin resistance. *Adv Nutr* 2015;6:198-205.
71. Chen HL, Haack VS, Janecky CW, et al. Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans. *Am J Clin Nutr* 1998;68:711-9.
72. Faust K, Sathirapongsasuti JF, Izard J, et al. Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *PLoS Comput Biol* 2012;8:e1002606.
73. Rajilic-Stojanovic M, Smidt H, de Vos WM. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environ Microbiol* 2007;9:2125-36.
74. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol* 2009;9:123.
75. Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 2010;5:e10667.
76. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 1:4586-91.
77. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012;488:178-84.
78. Hansen R, Russell RK, Reiff C, et al. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1913-22.
79. Vaughan EE, Heilig HG, Ben-Amor K, et al. Diversity, vitality and activities of intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria assessed by molecular approaches. *FEMS Microbiol Rev* 2005;29:477-90.
80. Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int J Food Microbiol* 2011;149:88-105.
81. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987;28:1221-7.
82. Holscher HD, Caporaso JG, Hooda S, et al. Fiber supplementation influences phylogenetic structure and functional capacity of the human intestinal microbiome: follow-up of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2015;101:55-64.
83. Rey FE, Gonzalez MD, Cheng J, et al. Metabolic niche of a prominent sulfate-reducing human gut bacterium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:13582-7.
84. Kushkevych VI. Etiological Role of Sulfate-Reducing Bacteria in the Development of Inflammatory Bowel Diseases and Ulcerative Colitis. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology* 2014;2:63-73.

85. Loubinoux J, Bronowicki JP, Pereira IA, et al. Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol* 2002;40:107-12.
86. Pitcher MC, Cummings JH. Hydrogen sulphide: a bacterial toxin in ulcerative colitis? *Gut* 1996;39:1-4.
87. Blachier F, Davila AM, Mimoun S, et al. Luminal sulfide and large intestine mucosa: friend or foe? *Amino Acids* 2010;39:335-47.
88. Shafiee MA, Charest AF, Cheema-Dhadli S, et al. Defining conditions that lead to the retention of water: the importance of the arterial sodium concentration. *Kidney Int* 2005;67:613-21.

TABLES

Table 1. Fibers offered to participants (quantity in g per sachet)

Fiber source / type	Women	Men
Wheat bran / insoluble	2.6	4.0
Pectin / soluble	2.6	4.0
Green banana flour / resistant starch	1.3	2.0

Each participant should consume 2 sachets a day, totaling 13g for women and 20g for men (prepared by Natupharma handling pharmacy, Passo Fundo, Brazil).

Table 2. Intake of fibers and liquids during the baseline and treatment phases

	Fiber (n = 10)	Fiber + water (n = 9)	P
Fiber (%)			
Baseline	37.2 ± 12.0	46.2 ± 6.6	0.064
Treatment*	83.7 ± 14.0	89.9 ± 5.9	0.172
Water (mL)			
Baseline	618 ± 254	538 ± 384	0.596
Treatment**	576.7 ± 218	1989 ± 27.24	0.0001
Other liquids (mL)			
Baseline	794 ± 503	644 ± 265	0.435
Treatment†	766 ± 462	360 ± 250	0.027
Total liquid (mL)			
Baseline	1413 ± 560	1183 ± 393	0.320
Treatment‡	1343 ± 492	2348 ± 242	<0.001

*Fiber consumption increased during treatments in both groups ($p < 0.001$). **Water intake raised in group FW as expected (baseline vs treatment $p < 0.001$), and remained stable in group F ($p = 0.470$). †The intake of liquids other than water decreased in group FW (baseline vs treatment $p = 0.014$), and remained stable in group F ($p = 0.695$). ‡Overall intake of liquids increased in the group FW (baseline vs treatment $p = 0.003$) and was not modified in group F ($p = 0.391$).

Table 3. Bowel habit during baseline (B) and treatment (T) phases

	F / B	F / T	P	FW / B	FW / T	P
Média ± dp	(n = 10)	(n=10)		(n = 9)	(n = 9)	
Movimentos / week	6.8 ± 2.0	8.8 ± 2.9	0.008	8.4 ± 3.0	9.9 ± 3.5	0.048
Straining (Likert 1-5)	2.1 ± 0.8	1.9 ± 0.8	0.391	2.0 ± 0.8	1.7 ± 0.8	0.143
Consistency (Bristol 1-7)	4.1 ± 0.8	4.3 ± 0.8	0.400	3.8 ± 0.8	3.8 ± 0.6	0.552

Table 4. Characteristics of the feces during baseline (B) and treatment (T) phases

	F / B	F / T	P	B / FW	T / FW	P
Mean \pm SD	(n = 10)	(n=10)		(n = 9)	(n = 9)	
Crude weight (g)	82 \pm 62	96 \pm 52	0.428	71 \pm 44	126 \pm 71	0.021
Water (%)	71 \pm 6	73 \pm 6	0.193	74 \pm 6	78 \pm 6	0.038
pH	7.7 \pm 0.6	7.3 \pm 0.5	0.130	7.7 \pm 0.9	7.3 \pm 0.5	0.080

Tabela 5. Intestinal microbiota from groups F and FW

Bacteria	Treatment															
	Fiber (n=10)							Fiber + Water (n=9)								
	Change (%) ^a			Nanograms of DNA ^b (Mean±SEM)				Δ ^c	P	Change (%)			Nanograms of DNA (Mean±SEM)			
	↑	↓	n/c	Baseline	After	Baseline	After			Δ	P	↑	↓	n/c	Baseline	After
<i>All Eubacterias</i>	50	40	10	16±1.9	18±0.4	1.1	0.631	55	45	0	18±0.6	19±0.5	1.05	0.863		
<i>Bacteroides e Prevotella</i>	80	20	0	100±14	130±6	1.3	0.075	100	0	0	96±12	150±6.8*	1.5	0.002		
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	70	30	0	150±8.9	160±12	1.1	0.529	100	0	0	130±11	190±5.2*	1.5	<0.001		
<i>Bifidobacterium</i> genus	50	20	30	110±45	200±51	1.8	0.241	100	0	0	61±32	260±48*	4.3	0.006		
<i>Ruminococcus albus</i>	70	20	10	24±13	63±20	2.6	0.099	67	22	11	41±18	78±20	1.9	0.169		
<i>Clostridium butyricum</i>	70	30	0	89±23	120±26	1.3	0.273	45	55	0	95±17	91±25	0.0	0.999		
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	50	40	10	33±4.7	33±4.8	0.0	0.971	78	22	0	26±6.7	40±3.2	1.5	0.094		
<i>Enterobacteriaceae</i>	10	50	40	160±52	120±43	-0.2	0.552	45	33	22	120±39	100±34	-0.2	0.789		
<i>Enterococcus faecalis</i>	40	30	30	7.3±2.5	6.4±2.6	-0.1	0.967	45	22	33	6.4±2.6	7.5±3	1.2	0.544		
Genero <i>Desulfovibrio</i>	20	70	10	120±23	17±12*	-7.0	0.003	22	78	0	81±22	18±10*	-4.5	0.023		

^a Percentage of participants that showed increase (↑), decrease (↓) or no change in bacteria population. ^b Values indicate DNA quantification (mean ± standard error of the mean) obtained after bacterial DNA amplification by PCR, proportional to the amount of DNA present in feces. ^cΔ: proportional change in DNA after treatment with F or FW; *comparisons with significant P value (Mann-Whitney U Test).

FIGURE LEGEND

Figure 1. Diagram showing participants flow during the study

