



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Vanessa Mello Granado Cassettari

“Análise da fermentação intestinal pelo teste do hidrogênio no ar expirado com lactulose em crianças com constipação funcional após a ingestão prolongada de biomassa de banana verde”.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Bases Gerais da Cirurgia

Orientadora: Professora Dra Erika Veruska Paiva Ortolan
Coorientador: Professor Dr Nilton Carlos Machado

**Botucatu
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cassettari, Vanessa Mello Granado.

Análise da fermentação intestinal pelo teste do hidrogênio no ar expirado com lactulose em crianças com constipação funcional após a ingestão prolongada de biomassa de banana verde / Vanessa Mello Granado Cassettari. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Erika Veruska Paiva Ortolan

Coorientador: Nilton Carlos Machado

Capes: 40501000

1. Biomassa. 2. Banana. 3. Constipação intestinal. 4. Intestinos. 5. Fermentação. 6. Microbioma gastrointestinal. 7. Hidrogênio. 8. Lactulose.

Palavras-chave: biomassa de banana verde; constipação; fermentação intestinal; teste do hidrogênio.

Vanessa Mello Granado Cassettari

“Análise da fermentação intestinal pelo teste do hidrogênio no ar expirado com lactulose em crianças com constipação funcional após a ingestão prolongada de biomassa de banana verde”.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Bases Gerais da Cirurgia

Orientadora: Professora Adjunta Erika Veruska Paiva Ortolan

Co-orientador: Professor Adjunto Nilton Carlos Machado

Botucatu
2018

Agradecimientos

Aos meus pais, Clóvis e Mônica pelo apoio em minhas escolhas e decisões.

Ao meu marido Lucas, parceiro de todas as horas, pelo amor e incentivo incondicional. Você faz tudo valer a pena.

À Professora Adj. Erika Veruska Paiva Ortolan, minha querida orientadora, por acreditar no meu trabalho, confiar em mais um ciclo de trabalho juntas, por apoiar todos os momentos do desenvolvimento desse trabalho.

Ao Professor Adj. Nilton Carlos Machado, meu grande co-orientador pela majestosa forma que compartilhou seus conhecimentos, constante auxílio e apoio.

À querida equipe da gastroenterologia pediátrica e toda equipe do ambulatório de pediatria, não poderia citar apenas alguns nomes, pois seria injusta em esquecer alguém, todos auxiliaram imensamente direta ou indiretamente para execução desse projeto.

Aos pais e meus pequenos pacientes, pois sem eles nada seria possível.

*"Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é
senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria
menor se lhe faltasse uma gota".*

(Madre Tereza de Calcutá)

RESUMO

Introdução: Os carboidratos não absorvíveis representados pela fibra alimentar (FA) e uma fração do amido resistente (AR) constituem substrato para a fermentação pela microbiota colônica com consequente produção intraluminal dos ácidos graxos de cadeia curta, e dos gases hidrogênio, metano e dióxido de carbono. Assim, a dosagem do H₂ no ar expirado é adequada para avaliar a fermentação intestinal, mediante o Teste de Hidrogênio Expirado (THE). Por outro lado, as frutas são uma apreciável fonte de FA e a banana verde se destaca por ser fonte de FA e AR, pois a banana verde pode conter de 10 a 40% de AR. Assim, considerando: a recomendação da ingestão de frutas como fonte de FA, a fermentação intestinal com produção de H₂ e a validade do THE em avaliar a fermentação colônica. Os objetivos do estudo foram avaliar em crianças com constipação funcional: a fermentação intestinal, mediante o THE com lactulose, em dois momentos, antes e após a suplementação prolongada de biomassa de banana verde; avaliar se a produção de H₂ no ar expirado é diferente em dois subgrupos de crianças: sem e com o uso de laxante; avaliar os sinais e sintomas durante o THE; avaliar a proporção dos sinais/sintomas da constipação funcional antes e após a suplementação com biomassa de banana verde.

Métodos: Estudo clínico, intervencional, prospectivo, randomizado, de casos consecutivos de 38 crianças encaminhadas para tratamento de constipação funcional. Critérios de inclusão: idade de 06 a 10 anos e constipação funcional segundo os Critérios de Roma IV; classificação com os tipos 01 ou 02 da consistência das fezes segundo a Escala Fecal de Bristol. Critérios de exclusão: distúrbios genéticos, neurológicos, comportamentais, cognitivos ou procedimentos cirúrgicos abdominais.

As crianças foram divididas em dois grupos (com e sem laxante). O grupo com laxante recebeu picossulfato de sódio. Os pacientes receberam duas colheres de sopa de biomassa de banana verde por 08 semanas. O THE com 10 g de lactulose foi realizado antes e após a suplementação. As amostras de ar expirado foram coletadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 minutos após a ingestão da lactulose e analisadas para as concentrações de H₂ no ar expirado usando um aparelho portátil e os resultados foram analisados em partes por milhão.

Resultados: 38 crianças completaram o período de intervenção de 08 semanas, quando houve uma redução estatisticamente significativa na proporção de crianças com classificação de Escala Fecal de Bristol < 03 , incontinência fecal > 01 /semana, dor para evacuar e dor abdominal. Também houve aumento na proporção de crianças com ≥ 03 evacuações/semana. A biomassa de banana verde foi bem tolerada e sem efeitos adversos. Na avaliação com o THE observamos maior produção de H_2 após a intervenção ($p < 0.0001$) em todos os tempos de avaliação, sendo a maior diferença no tempo de 120 minutos e na produção acumulativa de H_2 utilizando a Área Sob a Curva da produção de H_2 ($p < 0.0001$). Observamos ainda, que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem e com laxante em todos os momentos avaliados, tanto antes como após a intervenção com biomassa de banana verde. O número de crianças não produtoras de H_2 antes e após a suplementação da biomassa de banana verde foi respectivamente de 14 e 02 ($p < 0,001$). Não houve diferença para não produtores de H_2 entre os grupos sem e com laxante antes e após a suplementação.

Discussão: Os resultados demonstraram que o consumo de biomassa de banana verde reduziu a proporção de crianças com constipação funcional e produziu maior fermentação colonica. Os efeitos laxativos da FA e do AR e o possível efeito prebiótico presentes na biomassa de banana verde avaliada neste estudo podem estar ligados à sua fermentação e produção de ácidos graxos de cadeia curta.

Conclusão: Observamos que houve aumento na proporção de crianças que passaram a ser produtoras de H_2 após a suplementação com biomassa de banana verde ($p < 0,001$) e que não houve diferença na produção de H_2 nos grupos sem e com laxante, tanto antes como após a suplementação. Este resultado pode sugerir que a biomassa de banana verde teve papel no estímulo para o crescimento de uma microbiota fermentadora e produtora de H_2 após exposição à FA e AR presentes na biomassa de banana verde, e que não houve influencia pelo uso do laxante.

ABSTRACT

Introduction: The nonabsorbable carbohydrates composed of dietary fibre (DF) and a fraction of starch resistant (RS) constitute a substrate for fermentation by the colonic microbiota with a consequent intraluminal production of short chain fatty acids, hydrogen (H₂), methane and carbon. Thus, the dosing of the expired H₂ air is adequate to evaluate the intestinal fermentation, through the Test of Exhaled Hydrogen Breath Test (HBT). On the other hand, fruits are a significant source of DF, and the banana stands out as a source of DF and RS because the green banana can contain 10 to 40% of RS. Thus, considering: the recommendation of fruit intake as the source of DF; intestinal fermentation with H₂ production; the validity of HBT in evaluating colonic fermentation.

Objectives: The objectives of the study were to evaluate in children with functional constipation: the intestinal fermentation, through HBT with lactulose, in two moments, before and after the prolonged supplementation of BBV; to evaluate if the production of H₂ in the air exhaled is different in two subgroups of children: without and with the use of laxative; assess the signs and symptoms during HBT; to evaluate the proportion of signs / symptoms of functional constipation before and after BBV supplementation.

Methods: Clinical, interventional, prospective, randomised study of consecutive cases of 38 children referred for treatment of functional constipation. Inclusion criteria: age from 05 to 10 years and functional constipation according to Rome IV Criteria; classification with types 01 or 02 of stool consistency according to the Bristol Stool Form. Exclusion criteria: genetic, neurological, behavioural, cognitive or abdominal surgical procedures. The children were divided into two groups (with and no laxative). The laxative group received sodium picosulphate. The patients received two tablespoons of BBV for 08 weeks. The HBT with 10 g of lactulose was performed before and after supplementation. The exhaled air samples were collected at 30, 60, 90, 120 and 150 minutes after ingestion of lactulose and analysed for H₂ concentrations in the exhaled air using a portable apparatus and the results and analysed in ppm.

Results: 38 children completed the 08 week intervention period, when there was a

statistically significant reduction in the proportion of children with a Bristol Stool Form, fecal incontinence; 01 week, straining, and abdominal pain. There was also an increase in the percentage of children with ≥ 03 bowel movements/week. BBV was well tolerated and without adverse effects. In the evaluation with HBT, we observed a higher H₂ production after the intervention ($p < 0.0001$) at all evaluation times, with the most significant time difference of 120 minutes and the H₂ cumulative output using the Area Under the H₂ Production Curve ($p < 0.0001$). We also observed that there was no statistically significant difference between the groups without and with laxatives at all moments evaluated, both at and after BBV intervention. The number of no-H₂-producing children before and after BBV supplementation was respectively 14 and 02 ($p < 0.001$). There was no difference for no H₂ producers between the groups without and with laxatives before and after supplementation.

Discussion: The results showed that the consumption of BBV reduced the proportion of children with functional constipation and produced greater colonic fermentation.

The laxative effects of DF and RS and the prebiotic effect present in the BBV evaluated in this study may be related to its fermentation and production of short chain fatty acids.

Conclusion: We observed that: there was an increase in the proportion of children who became H₂ producers after BBV supplementation ($p < 0.001$) and that there was no difference in H₂ production in the groups without and with laxatives both before and after supplementation. This result may suggest that BBV had a role in stimulating the growth of a fermentative and H₂-producing microbiota after exposure to DF and RS present in the BBV and that there was no influence on the use of the laxative.

Lista de abreviaturas

CHO – carboidratos

FA – fibra alimentar

AGCC – ácidos graxos de cadeia curta

H₂ – hidrogênio

CH₄ – metano

CO₂ – dióxido de carbono

THE – teste do hidrogênio no ar expirado

AR – amido resistente

ppm – parte por milhão

CF – constipação funcional

BBV – biomassa de banana verde

AUC – área sob a curva

Lista de ilustrações

Ilustração 01: Biomassa de banana verde

Ilustração 02: Aparelho portátil EC60 Gastrolyzer

Lista de figuras

Figura 01: Elegibilidade dos pacientes do estudo

Figura 02: Produção acumulativa de H₂ (AUC) da produção de H₂ no ar expirado (ppm/minuto) avaliada pelo teste de H₂ expirado após ingestão de lactulose

Figura 03: Características clínicas das crianças com constipação funcional antes e após a intervenção com biomassa de banana verde

Lista de tabelas

Tabela 01 - Características sociodemográficas de crianças com constipação funcional antes da intervenção com biomassa de banana verde

Tabela 02 - Comparações das medianas da produção de H₂ no ar expirado em diferentes tempos, antes e após oito semanas de intervenção com biomassa de banana verde

Tabela 03 - Comparações da produção de H₂ no ar expirado em diferentes tempos de coleta antes da intervenção com biomassa de banana verde para os grupos sem e com o uso de laxante

Tabela 04 - Comparações da produção de H₂ no ar expirado em diferentes tempos em minutos após oito semanas de intervenção com biomassa de banana verde para os grupos sem e com laxante

Lista de Anexos

Anexo 01 – Aprovação comitê de ética

Anexo 02 – Escala Fecal de Bristol para avaliação padrão das fezes

Lista de Apêndices

Apêndice 01 – Termo de consentimento livre e esclarecido

Apêndice 02 – Protocolo de pesquisa

Apêndice 03 - Questionário de funcionamento intestinal

Apêndice 04 – Teste do H₂ no ar expirado

Apêndice 05 - Orientações sobre uso da biomassa

Apêndice 06 – Receita da biomassa de banana verde

Apêndice 07 – Dieta especial para realização do teste do H₂ no ar expirado

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO	19
3. MÉTODOS	19
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	37
7. REFERÊNCIA	39
ANEXOS	47
APÊNDICES	49

1. INTRODUÇÃO

A alimentação humana contém produtos de origem vegetal, quer exclusivamente ou como parte fundamental, desde os primórdios da sua existência. A primeira grande mudança nesta alimentação ocorreu há aproximadamente 10.000 anos atrás quando o homem aprendeu a plantar. Começou a selecionar plantas e a cultivar, em larga escala, sementes com grande quantidade de amido e frutas suculentas. A segunda mudança veio com a Revolução Industrial do Mundo Ocidental, quando pela primeira vez na história, avanços tecnológicos se tornaram disponíveis para a produção em massa de farinhas refinadas e açúcar ^{1,2}. Dentre os diversos elementos que compõem a alimentação humana, os carboidratos (CHO) são a principal fonte para a sua necessidade energética, com praticamente metade das calorias ingeridas em quase todas as populações do mundo ³.

Os CHO podem ser classificados, de acordo com seu aproveitamento no intestino delgado humano, em absorvíveis e não absorvíveis. Os primeiros (absorvíveis) são divididos em simples (glicose, frutose, galactose, sacarose, lactose e maltose) e complexos (dextrinas, amido e glicogênio). Nas dietas ocidentalizadas o amido provê aproximadamente 60% do CHO absorvível, variando desde 45 a 50% nos países desenvolvidos, até cerca de 80% nas populações menos privilegiadas. Outros CHO oferecidos na dieta habitual são aproximadamente 30% de sacarose e 10% de lactose, sendo a frutose, o glicogênio e os oligossacarídeos ingeridos em menor quantidade e do ponto de vista nutricional, de menor importância ³.

Os CHO não absorvíveis são constituídos principalmente pela fração denominada fibra alimentar (FA), que é derivada da parede celular e do cimento intercelular dos vegetais. A FA é definida como "parte comestível de alimentos de origem vegetal ou CHO análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano, com fermentação completa ou parcial no cólon" ⁴⁻⁶.

Assim, a FA, apresentando fermentação no cólon, pode promover o crescimento da microbiota benéfica ⁷. A FA pode também ser classificada em componentes solúveis e insolúveis em água. Os solúveis são compostos por polissacarídeos que incluem a maioria das hemiceluloses, pectinas, gomas e mucilagens, sendo que as duas primeiras compreendem maior grupo. A celulose, a

lignina e parte das hemiceluloses são praticamente insolúveis ⁸, e não sendo digeridas pelo trato gastrointestinal humano, tem várias propriedades físico-químicas que ajudam na formação de fezes macias e volumosas, melhoram o tempo de trânsito intestinal e consequentemente promovem um hábito intestinal saudável. As fibras insolúveis, que estão presentes em alimentos como cereais integrais, retêm a água, aumentando o volume fecal, acelerando o tempo de trânsito intestinal ⁹. Já a fibra solúvel, encontrada em frutas e legumes, absorve água e se torna uma substância gelatinosa e viscosa.

Além da FA, uma pequena fração dos componentes da dieta não é digerida e absorvida, mesmo em condições fisiológicas, tais como: uma parcela do amido, excesso de frutose em relação à glicose, rafinose, estaquiose, polidextrose, proteínas da dieta, enzimas pancreáticas e outros como glicoproteínas e mucopolissacarídeos intestinais ⁸.

No cólon, como não ocorre absorção de mono, oligo e polissacarídeos intactos, todas estas substâncias constituem substrato para a fermentação pela microbiota colônica. Servir como substrato para a microbiota intestinal no processo de fermentação é uma das funções mais importantes da FA, que cumpre assim um papel essencial no equilíbrio do ambiente colônico. O cólon humano contém um dos mais complexos ecossistemas bacterianos conhecidos, cerca de 500-1000 espécies diferentes de bactérias. Mais que 90% destas bactérias isoladas são anaeróbias ¹⁰, ¹¹. A concentração de bactérias no cólon é muito alta e nas fezes a quantidade total é de aproximadamente 10^{11} a 10^{12} por grama de peso seco, que corresponde a 55% do peso seco das fezes em indivíduos com uma dieta do tipo ocidental ^{12,13}.

No cólon a interação entre CHO não digeridos e não absorvidos e a microbiota tem como consequência a fermentação e a produção intraluminal dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), acético, propiônico, butírico e dos gases hidrogênio (H_2), metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2). Os AGCC têm ação benéfica para o hospedeiro, principalmente o butirato, que serve como fonte de energia e fator de crescimento normal para as células da mucosa colônica, assim como os outros AGCC que, após absorção, atuam no metabolismo hepático e muscular ¹⁴⁻¹⁸. Os gases produzidos durante o processo de fermentação, como o H_2 e o CH_4 ¹⁹ ao contrário dos AGCC, parecem não ter papel fisiológico importante. Entretanto, para se acompanhar o metabolismo intraluminal do cólon humano, que

não é facilmente acessível para investigação "in vivo", a dosagem destes gases no ar expirado é de grande valia, principalmente mediante o Teste de Hidrogênio Expirado (THE).

O THE mede de maneira indireta e semi-quantitativa a produção deste gás no cólon ¹⁹⁻²¹. A maior vantagem do THE é que ele tende a refletir a quantidade de CHO que não foi absorvida, enquanto os testes de "tolerância" ou de absorção tendem a refletir a quantidade que foi absorvida, daí a sua grande aplicação no estudo de alimentos que sejam fonte de FA e/ou outros CHO que possam sofrer bloqueio parcial ou total no processo digestivo-absortivo.

Um dos primeiros estudos a respeito das variáveis fisiológicas que controlam a produção e excreção de H₂ em humanos foi o de Levitt ¹⁹, demonstrando que o cólon de adultos normais é o local praticamente exclusivo de produção do H₂ e, como a concentração deste gás é mais alta no lúmen do que nos tecidos, isto favorece a sua difusão para a corrente circulatória. Em torno de 21% do total de H₂ produzido é absorvido e eliminado para a atmosfera pelos pulmões, sendo outra parte eliminada pela flatulência. Considerando que o H₂ não é produto final do metabolismo celular humano, nem aproveitado pelas suas células e que a concentração de H₂ no ar atmosférico ao nível do mar é uma constante de 0,02 Mol/l ou 0,05 ppm ²², concentrações acima deste valor no ar expirado representam H₂ gerado no organismo por fermentação no trato gastrointestinal.

O THE oferece como vantagens: ser de simples realização, bem tolerado, versátil, amplamente aplicável e pouco invasivo. Tem sido empregado em testes de absorção de CHO absorvíveis como a lactose, sacarose, frutose, assim como para aqueles não absorvíveis. O THE também tem sido utilizado para estudar o supercrescimento bacteriano no intestino delgado, pois quando o substrato fermentável entra em contato com o grande número de bactérias anaeróbias presentes no trato gastrointestinal proximal o H₂ é produzido, absorvido e aparece rapidamente no ar expirado. Outra aplicação do THE é o estudo do tempo de trânsito boca-ceco, considerando que a produção de H₂ ocorre quase totalmente no cólon proximal e que a sua absorção e aparecimento no ar expirado é rapidamente assinalada ^{21,23,24}.

O teste do hidrogênio-respiratorio baseia-se no conceito de que parte do gás produzido pela fermentação bacteriana do cólon é absorvida via sanguínea,

através da mucosa intestinal e ao passar pelos pulmões é excretado pela expiração, onde pode ser quantificado facilmente. Como relatado, a fermentação intestinal ocorre principalmente às custas de CHO que chegam ao cólon humano, dessa forma o uso do THE em estudos utilizando FA é de grande valia^{21,24,25}.

A lactulose é um dissacárido sintético, não absorvível, constituído por frutose e galactose, e não há hidrolase no intestino delgado humano para sua digestão e absorção. A lactulose passa intacta pelo intestino delgado e sofre fermentação pela microbiota colonica com produção de AGCC e gases, incluindo H₂ e CH₄. Uma sobrecarga oral de lactulose, portanto, sempre será mal absorvida e exposta a bactérias intestinais, que a fermentam rapidamente. Assim, o THE com lactulose é um marcador de fermentação bacteriana no trato gastrointestinal²⁶.

A FA que começa como um contingente relativamente pequeno da dieta torna-se, portanto, um constituinte maior deste material que compulsoriamente chega ao cólon, onde ocorrem suas principais ações fisiológicas. Baseando-se nestes fatos, sociedades médicas e de nutrição têm feito recomendações a respeito da ingestão de FA, tanto para a prevenção como terapêutica, orientando para o consumo de alimentos com quantidade adequada de FA e amido a partir de cereais integrais, hortaliças e frutas. Sugerem também que a FA deve ser consumida a partir de fontes variadas de alimentos, pois os estudos epidemiológicos nos quais se observou redução do risco de doenças basearam-se em padrões dietéticos contendo alimentos ricos em FA e não em frações isoladas da mesma^{4,5}.

Embora o conteúdo de FA de frutas e hortaliças seja em geral relativamente baixo pelo grande teor de água²⁷, a sua contribuição para o total de FA solúvel ingerida pode ser apreciável, especialmente se considerarmos as frutas secas. Considerando a relação entre FA e funcionamento intestinal, Kelsay et al²⁸ observaram que uma dieta contendo frutas e hortaliças como fontes de FA, produziu os mesmos efeitos que aqueles já relatados na literatura para os grãos integrais de cereais, isto é, diminuição do tempo de trânsito intestinal, aumento do número de evacuações e do peso fecal além de diminuição da digestibilidade aparente de energia, nitrogênio e gordura. Concluíram que, aqueles indivíduos que não conseguem ou que não preferem produtos de grãos integrais como fonte de FA, podem obter os mesmos efeitos a partir de frutas e hortaliças. Contudo, foram

poucos os estudos relacionando a resposta gastrointestinal após ingestão de frutas isoladamente.

Olmsted et al.²⁹ observaram que maçã, damasco e ameixa seca aumentaram o volume fecal e a quantidade de ácidos voláteis nas fezes. Harris et al.³⁰ observaram, em estudos experimentais em rato, que a banana é "suavemente" laxativa, atribuindo tal efeito à pectina e ao tanino, sugerindo que os mesmos efeitos também podem ser observados em humanos. Hubacher & Doernberg³¹ referiram a ampla evidência do efeito laxativo da ameixa seca. Walker³² observou discreta diminuição do tempo de trânsito intestinal e acentuado aumento do peso seco, gordura e nitrogênio fecais oferecendo 05 a 07 laranjas por dia (350 gramas) para crianças escolares.

Em indivíduos ileostomizados, Kramer et al.³³ relataram que o suco de ameixa aumentou o peso úmido e seco, conteúdo de água, sódio e potássio da excreção ileal e Kramer³⁴ referiu que a tâmara, uva passa, uva, damasco, morango, pêsego e banana também aumentaram significativamente estes parâmetros na excreção ileal humana. Ainda em indivíduos com ileostomia, Englyst & Cummings³⁵, estudando a digestão de polissacarídeos da banana, identificaram um tipo de amido altamente resistente à hidrólise pela alfa-amilase, tanto "in vitro" como no intestino delgado humano.

Os estudos que analisam a fermentação intestinal mediante o THE, a partir de refeições com frutas são ainda mais escassos. O primeiro destes é o de Burroughs & Calloway³⁶, que estudaram em adultos saudáveis, por 12 dias consecutivos divididos em 03 períodos de 04 dias, o efeito da adição a uma dieta padronizada, de abacaxi "in natura", de abacaxi em conserva e de pêsego, não observando diferença entre as frutas quanto ao tempo de trânsito intestinal, frequência das evacuações, digestibilidade da proteína e gordura, conteúdo de FA nas fezes e produção intestinal de H₂ e CH₄.

Hickey et al.³⁷ estudaram a produção intestinal de gás pelas medidas do H₂ no ar expirado e na flatulência após a ingestão de refeição teste com uva passa e banana e com os sucos de maçã, damasco, uva, ameixa seca e laranja. Neste estudo, somente os sucos de laranja e de damasco não aumentaram a produção de H₂ intestinal, sendo que houve aumento significativo após os sucos de maçã e ameixa seca e menos intensamente após o suco de uva. O gás retal aumentou

significativamente após a ingestão do suco de maçã e não pode ser medido após o suco de ameixa seca pela ocorrência de diarreia. A banana e a uva passa levaram a uma acentuada elevação na produção de H_2 intestinal. Os autores não concluíram a respeito da substância responsável pela fermentação intestinal, referindo possível relação com a composição de CHO das frutas. Truswell et al.³⁸ referiram que esta não conclusão de Hickey et al.³⁷ poderia ser por não terem considerado a frutose como principal substrato fermentativo do suco de maçã, pois a absorção diminuída de frutose pode ocorrer após ingestão de grande quantidade de frutas, suco de frutas ou outras bebidas com concentração alta de frutose e baixa de glicose. Tudo indica que é a desproporção na concentração de glicose e frutose que poderia levar a esta má-absorção de frutose. Tanto é assim que Andersson & Nygren³⁹ descreveram quatro pacientes com sintomas gastrointestinais crônicos causados por frutose de frutas e suco de frutas. Truswell et al.³⁸ ofereceram suco de maçã a trinta indivíduos adultos normais e observaram excesso de produção de H_2 em dois, atribuindo tal efeito à absorção incompleta de frutose.

Ainda utilizando o THE para estudar a má-absorção de CHO de sucos de frutas, em crianças com diarreia crônica inespecífica Kneepkens et al.⁴⁰, Hyams & Leichter⁴¹, Kneepkens et al.⁴² avaliaram o suco de maçã e Hyams et al.⁴³ avaliaram os sucos de pêra, maçã, uva e uma solução de sorbitol a 02%, demonstrando em todos os estudos, tanto em crianças do grupo controle quanto nas com diarreia crônica um excesso de produção de H_2 e, também atribuíram tal fato à desproporção entre as concentrações de frutose e glicose destes sucos.

Portanto, as frutas entram na composição da maioria dos cardápios da alimentação humana e, embora tenham alto conteúdo de água, tornam-se uma apreciável fonte de FA e outros açúcares que podem não ser absorvidos completamente, tal como demonstrado nos estudos relatados acima. Isto poderia ocorrer principalmente, se as frutas fossem ingeridas sob a forma de fruta seca, pela potencialização na concentração destes CHO. Assim, ingestão de frutas teria grande aplicabilidade no tratamento da CF de criança e adolescentes⁴⁴⁻⁴⁷.

Dentre as frutas, a banana se destaca por ser uma fruta amplamente cultivada na maioria dos países em desenvolvimento da América Latina, sendo de baixo custo e facilmente disponível. Estudos têm sugerido que o consumo da banana verde exerce um efeito benéfico sobre a saúde humana. Podendo ter

grande potencial como agente terapêutico, pois o papel da FA e do amido resistente (AR) tem sido cada vez mais reconhecido no tratamento de muitos distúrbios metabólicos digestivos. Em muitas comunidades, a banana verde tem sido utilizada no tratamento de distúrbios intestinais como na diarreia ⁴⁸⁻⁵⁰, e na melhora de dispepsia não ulcerosa e úlceras pépticas com a administração do pó seco de banana verde ^{51,52}. Postula-se ainda que haja aumento da resistência da mucosa e promoção da cura do tecido danificado devido à presença das FA ⁵³.

A polpa da banana verde é um alimento que pode conter até 55 a 93% de amido (em base seca), sendo em média de 10 a 40% a fração resistente, tendo comparação à batata e ao endosperma do grão do milho ^{54,55}. A banana verde é rica em AR, que não é digerido no intestino delgado humano ^{56,57}. Tendo sua definição como: "fração de amido que resiste à digestão no intestino delgado de humanos saudáveis." Consequentemente, o AR pode ser considerado uma fibra funcional pela sua natureza, não digerível e de efeitos fisiológicos benéficos ⁷. Este é fermentado pelas bactérias produzindo AGCC, principalmente acetato, propionato e butirato, que são fontes de energia para as células epiteliais colônicas ⁵⁸ e, como tal, podem influenciar a saúde intestinal e funções metabólicas relacionadas. Esta reação de fermentação também gera gases como H₂, CH₄, CO₂. ^{9,59}. No processo de fermentação colônica, o H₂ produzido é um índice sensível do aumento da fermentação de CHO. Uma fração constante dessa produção colônica é excretada pelos pulmões. Assim é possível avaliar a fermentação de diferentes CHO resistentes (amido resistente) através do THE ^{60,61}.

Em estudo anterior realizado por esse grupo, foi avaliado o efeito da associação de BBV (biomassa de banana verde) com diferentes laxantes em pacientes com CF, sendo que os resultados obtidos foram positivos, pois houve melhora do padrão do hábito intestinal, redução de sintomas associados à CF e diminuição da dosagem de laxante consumida nos grupos que associaram o uso da BBV ⁶².

CF é queixa comum e importante em crianças, em 2011 Rajindrajith & Devanarayana ⁶³, indicaram que a incidência de CF na população pediátrica estava em ascensão. Uma análise nos EUA entre 1992 e 2004, mostrou duplicação das taxas do diagnóstico em consultas ambulatoriais e um aumento de quase quatro vezes nas taxas de internação. Além disso, pacientes com menos de 15 anos

tiveram um maior número de visitas a consultórios devido à CF. O estudo de Moraes & Maffei ⁶⁴ revela que, no Brasil, as taxas de prevalência variam de 21,8% a 38,4%, representando um importante problema de saúde pública ^{65,66}. Essa ampla variação nas taxas de prevalência pode ser explicada por alguns fatores como: diferenças na definição de CF, na variação da duração dos sintomas, na distribuição etária da população estudada e no método de coleta de dados ⁶³. A fisiopatologia da CF. é multifatorial e apresenta vários aspectos não esclarecidos, trazendo sérias implicações na vida das crianças e suas famílias.

Estudos mostram que a CF está associada com o comprometimento na qualidade de vida das crianças ⁶⁷, pois aproximadamente 50% permanecem com os sintomas após 05 anos de terapia. Após os 10 a 12 anos de idade nota-se uma melhora no quadro clínico, pois, a criança consegue se conscientizar melhor do funcionamento do seu próprio organismo. Entretanto 30% continuarão a ter sintomas para além da puberdade ^{68,69}. O tratamento ambulatorial das crianças com CF consiste na terapia farmacológica, no treinamento das evacuações e na abordagem nutricional. Atualmente, a ingestão adequada de FA é calculada, com base na recomendação da *American Health Foundation* para maiores de dois anos, como: 05 gramas mais a idade em anos (idade + 05 gramas) ⁷⁰.

Assim, considerando:

- A prevalência da CF.
- Frutas serem parte importante da alimentação humana desde os seus primórdios.
- A recomendação universal da ingestão de frutas como fonte de FA e principalmente de FA solúvel, potencialmente fermentável.
- A fermentação intestinal com produção de AGCC e a importância destes para o metabolismo da célula epitelial colônica.
- Que na maioria dos trabalhos relatados na literatura analisaram-se o peso fecal, tempo de trânsito intestinal e não a fermentação intestinal.
- Os poucos trabalhos científicos relacionando a fermentação intestinal após a ingestão de frutas quer "in natura", quer secas.
- A validade do THE em avaliar a fermentação intestinal colônica.

Justificou-se a realização do presente estudo que se propôs a avaliar em crianças com CF:

Objetivo primário

- Fermentação intestinal, mediante a produção de H₂ no ar expirado, pelo THE com lactulose, em dois momentos, antes e após a suplementação prolongada de BBV.

Objetivos secundários

- Produção de H₂ no ar expirado, pelo THE com lactulose, é diferente em dois subgrupos de crianças: sem e com o uso de laxante.
- Efeitos adversos durante o THE com lactulose antes e após a suplementação com BBV.
- Mudança na proporção dos sinais/sintomas da CF antes e após a suplementação com BBV.

3. MÉTODOS

Desenho do estudo e casuística

Estudo clínico intervencional, prospectivo, randomizado, de casos consecutivos de crianças entre 06 e 10 anos de idade (considerando a capacidade para realização do THE), atendidas no ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica da Faculdade de Medicina de Botucatu entre 2016-2017 para tratamento de CF. Os pais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 01), aprovado pelo Comitê de Ética local (nº CAAE 35063414.0.0000.5411) (Anexo 01).

Para obter um grupo homogêneo, todos os pacientes elegíveis para o estudo preencheram os seguintes critérios de inclusão:

- Ter treinamento esfinteriano anal e diagnóstico de CF de acordo com os Critérios de Roma IV (Quadro 01) ⁷¹;
- Classificação com os tipos 01 ou 02 da consistência das fezes segundo a Escala Fecal de Bristol de 07 pontos ⁷²

Quadro 01. Critérios de Roma IV para crianças com Constipação Funcional em maiores de 04 anos de idade

Pelo menos um mês de sintomas em uma criança com desenvolvimento compatível com pelo menos quatro anos de idade que apresenta dois ou mais dos seguintes achados:

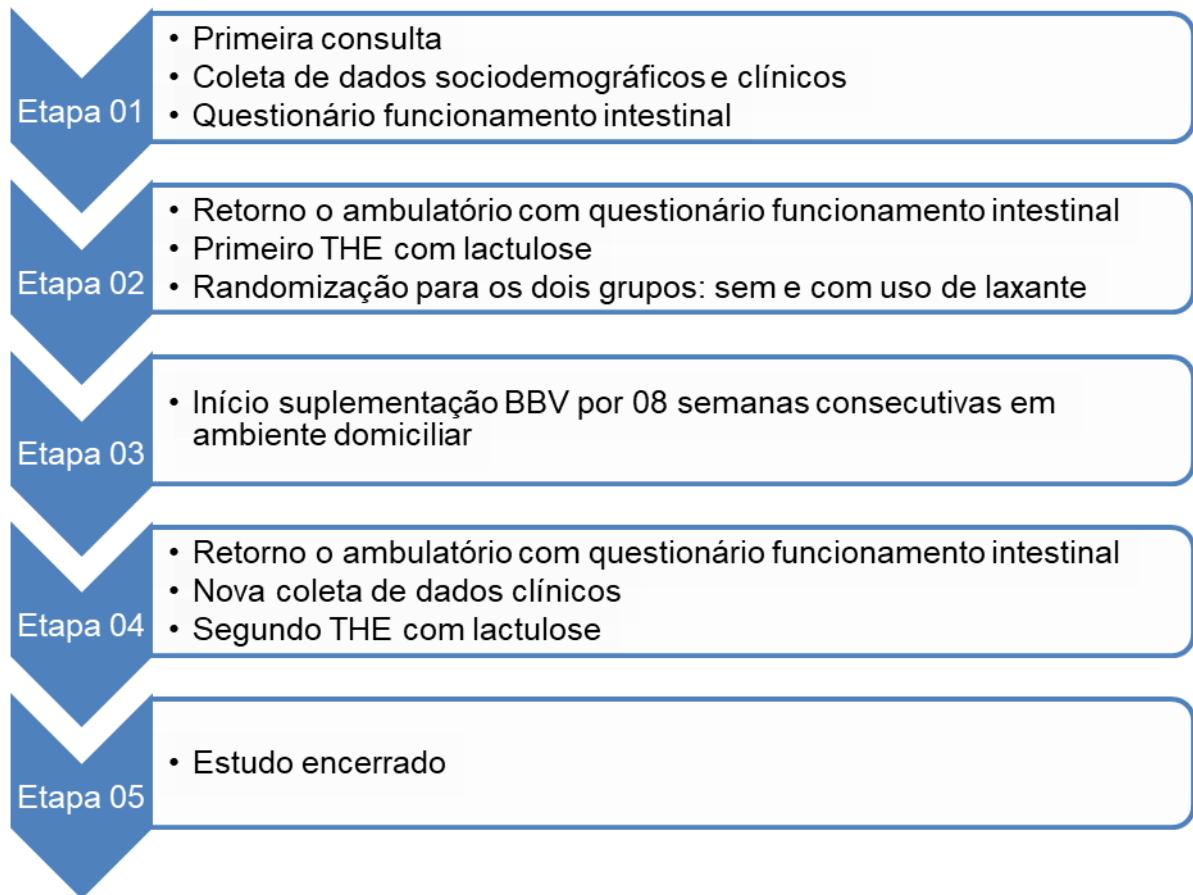
- Duas ou menos evacuações no vaso sanitário por semana
- Pelo menos um episódio de incontinência fecal por semana
- História de postura de retenção fecal voluntária e excessiva
- História de evacuações dolorosas ou endurecidas
- Presença de grande massa fecal no reto
- História de fezes de grande diâmetro que obstruem o vaso sanitário

Os critérios de exclusão foram: distúrbios genéticos, neurológicos, comportamentais e cognitivos; procedimentos cirúrgicos abdominais prévios; e crianças que receberam antibióticos e/ou procinéticos durante as 04 semanas anteriores ao teste.

Coleta de dados

O protocolo foi realizado com avaliação inicial de 01 semana para estabelecer hábitos intestinais atuais e avaliação final após um período de 08 semanas de suplementação com BBV. Durante o estudo, os pais e pacientes foram educados sobre CF e a criança foi instruída a tentar evacuar no banheiro no mesmo horário do dia por 10 a 15 minutos. O acompanhamento dos pacientes, a avaliação clínica, a frequência de efeitos adversos e a conformidade com o protocolo do estudo foram realizados nas consultas de rotina, a cada quinze dias, e por ligações telefônicas.

O estudo foi projetado para obter dados em 05 etapas:



Fluxograma utilizado para realização da coleta de dados

- Etapa 01. Os dados sobre características sociodemográficas e clínicas foram coletados na primeira visita, utilizando protocolo de pesquisa padronizado para o estudo, onde era avaliada presença de evacuação dolorosa, dor abdominal e sangue nas fezes (Apêndice 02). O peso corporal e a altura foram medidos e a avaliação do crescimento foi determinada usando escores z de acordo com os padrões de crescimento da Organização Mundial da Saúde⁷³. Uma semana anterior ao uso da BBV e na sétima semana do seu uso os pacientes foram monitorados por um diário das fezes padronizado (Apêndice 03) para obter os seguintes dados: frequência das evacuações, consistência de fezes de acordo com a Escala Fecal de Bristol (Anexo 02), frequência de episódios de incontinência fecal.
- Etapa 02. Após os primeiros 07 dias, os pacientes retornaram ao ambulatório com o questionário de funcionamento intestinal preenchido. Foi realizado o primeiro THE com lactulose (Apêndice 04). Ao término do THE foi realizada randomização para os dois grupos: sem e com uso de laxante. O grupo com uso de laxante recebeu o medicamento picossulfato de sódio nas doses e recomendações segundo

Tabbers et al ⁷⁴. Seu uso inicia-se após a realização do primeiro THE em ambiente domiciliar de forma continua até a finalização do estudo.

- Etapa 03. Os pacientes recebiam suplementação com BBV por 08 semanas em ambiente domiciliar. Os participantes foram orientados para consumir diariamente duas colheres de sopa da suplementação acrescido no alimento de preferência da criança. Os responsáveis receberam instruções verbalmente e por escrito na forma de folheto (Apêndice 05) de como acrescentar a BBV na alimentação diária da criança, bem como os cuidados necessários para o armazenamento. Os pais foram orientados para que a criança consumisse a dieta habitual e a ingestão normal de líquidos para que não houvesse viés da alimentação nos resultados do estudo. A suplementação teve seu fornecimento semanal gratuito durante todo o período de seguimento do estudo.
- Etapa 04. Após 08 semanas, os pacientes retornaram ao ambulatório com o questionário de funcionamento intestinal preenchido (Apêndice 03). Era realizado o segundo THE com lactulose (Apêndice 04) e preenchido o protocolo de pesquisa padronizado para o estudo (Apêndice 02).
- Etapa 05. Ao término do estudo os pais e as crianças foram esclarecidos sobre os benefícios da BBV, caso fosse do desejo da família, era fornecida a técnica de preparo da BBV em nível domiciliar para que a criança continuasse a receber a BBV no seguimento (Apêndice 06).

Preparação, composição e consumo da dieta do estudo.

A BBV foi produzida por uma mercearia local (CNPJ: 140.286.650.001-18) e fornecida semanalmente sem custo para o paciente. Foram utilizadas bananas nanicas verdes (Musa SP AAA), pela facilidade de acesso na compra, a mesma foi comprada no mercado local e a BBV foi preparada a partir da banana com casca. As frutas foram lavadas, cozidas em uma panela de pressão com água fervente por 20 minutos. Foram adicionados 50 ml de água para cada 200 g de banana verde. Depois disso, a BBV foi homogeneizada e armazenada a 12°C em geladeira. A BBV consistia em uma massa espessa, branca e homogênea, e não apresentava variação substancial na cor, no sabor e no odor.



Ilustração 01: Biomassa de banana verde

Cassettari et al ⁶² relataram que o uso de 02 colheres de sopa/dia de BBV (30g) como medida padrão de suplementação para tratamento da CF apresentaram uma boa aceitação por parte de crianças e adolescentes. Dessa forma foi adotada para esse estudo a mesma dosagem de 02 colheres de sopa por dia de BBV.

Definições de medidas de resultado clínico

O desfecho primário foi a produção de H_2 no ar expirado com lactulose antes e após 08 semanas de suplementação da BBV e a redução da proporção de crianças com classificações de consistência de fezes 01 ou 02 usando a Escala Fecal de Bristol. Os desfechos secundários foram: aumento da proporção de crianças com >03 evacuações/semana e redução da proporção de frequência de episódios de incontinência fecal, evacuação dolorosa, dor abdominal, presença de sangue nas fezes.

Teste do Hidrogênio no Ar Expirado (THE)

O teste foi realizado de acordo com a Conferência de Consenso de Roma ²¹ e o Consenso Norte Americano ⁷⁵.

- No dia anterior a cada procedimento do THE, os pacientes foram aconselhados por nutricionista a evitar CHO fontes de amido e FA. As refeições deveriam consistir de arroz, diferentes tipos de carne e ovo para reduzir a

quantidade de alimentos fermentáveis e os níveis de H₂ expirado no jejum do dia do teste. As orientações eram fornecidas em folheto explicativo (Apêndice 07).

- As crianças deveriam manter um período de 08 horas de jejum antes do THE. No dia seguinte, compareciam às 07 horas da manhã no ambulatório para a realização do THE.
- Após a coleta de uma amostra inicial de ar expirado (jejum) as crianças ingeriram 10 g de lactulose (Lactugol®; Arte nativa), tomado com 200 mL de água. O tempo para ingerir a lactulose não deveria ser superior a 10 minutos. No jejum, se o valor de H₂ fosse superior a 10 ppm o exame não era realizado, pois o valor adequado do jejum, referido na literatura para realização do exame é 7±5 ppm.
- As amostras de ar expirado foram coletadas aos 30, 60, 90, 120 e 150 minutos após a ingestão da lactulose ⁷⁶.
- As amostras foram analisadas para as concentrações de H₂ no ar expirado usando um aparelho portátil (EC60 Gastrolyzer Breath Hydrogen Monitor; Bedfont Scientific, Kent, UK) e os resultados foram registrados em partes por milhão (ppm).



Ilustração 02: Aparelho portátil EC60 Gastrolyzer

- Os pacientes foram mantidos sob supervisão direta durante todo o THE. O exercício físico não foi permitido antes e ao longo do teste, pois poderia interferir com as dosagens do H₂ no ar expirado. As crianças foram instruídas a evitar inspiração profunda e não hiperventilar antes da coleta.

- Foi aplicado um questionário antes da administração da solução de lactulose e a cada momento de coleta da amostra do THE. As crianças eram inqueridas sobre as seguintes manifestações: náusea, eructações, distensão abdominal, diarreia e flatulência (Apêndice 04).

Interpretação do THE ^{21,77}

Os parâmetros de interesse na produção de H_2 no ar expirado nesse estudo foram:

- Todos os cálculos foram baseados no ΔH_2 que corresponde à produção num dado momento menos o valor do jejum.
- O valor da eliminação de H_2 no ar expirado nos diferentes tempos de coleta.
- A área sob a curva (AUC) representa uma estimativa do H_2 total produzido a partir da fermentação em um determinado período de tempo.
- Foi considerado como não produtor de H_2 : se em todas as amostras coletadas apresentasse um $\Delta H_2 < 10$ ppm e/ou um $\Delta H_2 > 10$ ppm em um momento da coleta sem produção de H_2 em uma medida adjacente ^{76,78}.
- Foi considerado síndrome de supercrescimento bacteriano no intestino delgado quando houve uma resposta aumentada de ≥ 20 ppm H_2 dentro de 90 minutos após a ingestão da lactulose.

Análise estatística

A distribuição dos dados foi analisada para distribuição normal usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Todas as variáveis contínuas foram expressas como mediana e IQR ou média $\pm$ desvio padrão de acordo com a distribuição. As variáveis categóricas foram apresentadas como números e percentagens. A comparação das variáveis contínuas entre os grupos foi realizada com o teste de Mann-Whitney. As médias para os dados pareados foram comparadas pelo teste de Wilcoxon. As variáveis categóricas foram analisadas utilizando o teste exato de Fisher. A área corrigida da linha de base sob a curva foi calculada usando a regra trapezoidal. Os testes estatísticos foram bicaudais e o nível de significância foi considerado em $p < 0,05$. Todos os cálculos estatísticos foram realizados com GraphPad Prism versão 5.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA).

Tamanho da amostra e Randomização

O tamanho da amostra foi estimado em 19 indivíduos em cada um dos dois grupos, com base na redução para 30% da proporção após a intervenção de variáveis categóricas com significância bilateral de 0,05 e poder do teste de 0,8. Esses sujeitos foram distribuídos em dois grupos de tratamento por um algoritmo matemático gerado usando StatMate versão 1.0 (GaphPad Software, Inc, San Diego, CA, 92121.USA). A segunda sequência de alocação foi gerada pelo autor (NCM) e todas as intervenções dietéticas pelo autor (VMGC).

4. RESULTADOS

Quarenta e cinco crianças consecutivas foram incluídas no estudo. Destas, trinta e oito (85%) crianças com CF completaram o período de intervenção de 08 semanas. A figura 03 resume os pacientes incluídos no estudo.

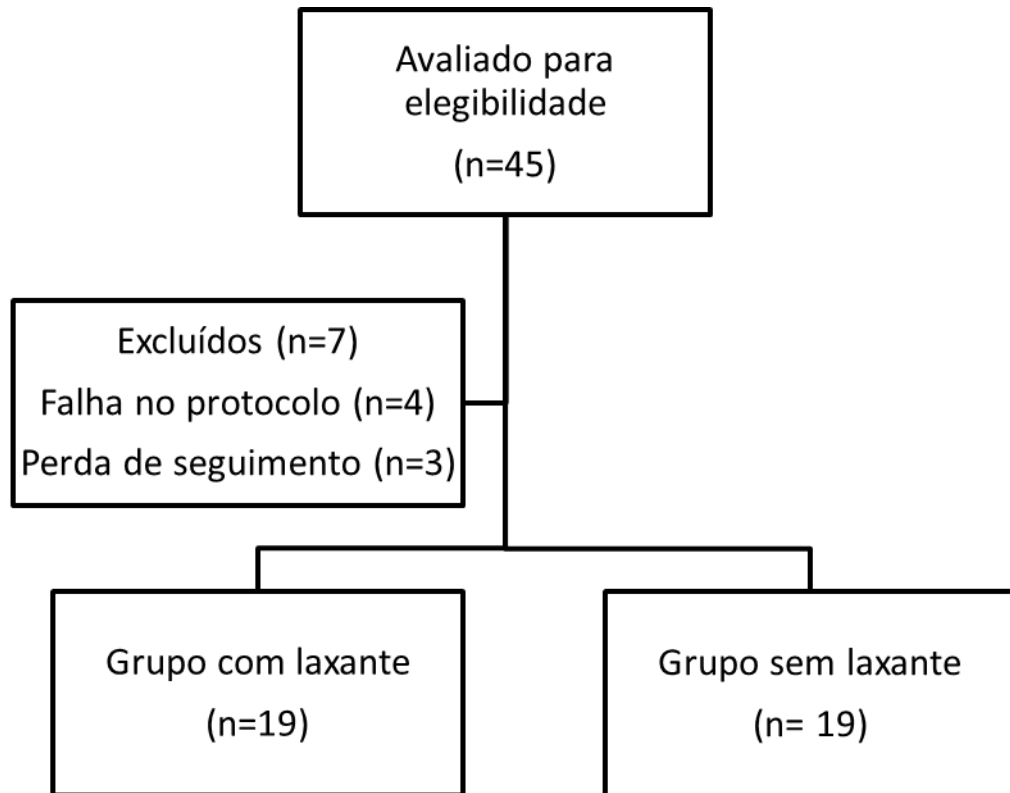


Figura 01: Elegibilidade dos pacientes do estudo

A Tabela 01 apresenta características sociodemográficas de 38 crianças antes da intervenção com BBV. Foi observada longa duração de sintomas associados à constipação.

Tabela 01 - Características sociodemográficas e clínicas de crianças com constipação funcional antes da intervenção com biomassa de banana verde

	Mediana	IQR
Gênero:		
Masculino/Feminino (%Feminino)*	23/15 (40)	-
Idade na primeira consulta (meses)	104	(78 - 120)
Duração dos sintomas (meses)	48	(30 - 69.5)
Idade das mães (anos)	37	(34 - 41)
Idade dos pais (anos)	39	(37 - 45)
Número de cômodos da casa	5	(4 - 5.7)
Número de pessoas na casa	4	(3 - 5)
Número de crianças na casa	2	(1 - 2)
Índice de aglomeração	0.8	(0.7 - 1.0)
Escore Z peso	0.43	(-0.8 - 2.2)
Escore Z altura	0.37	(-0.3- 1.5)
Escore Z Índice de Massa Corporal	1.71	(-0.1 - 2.5)

*número total e percentagem

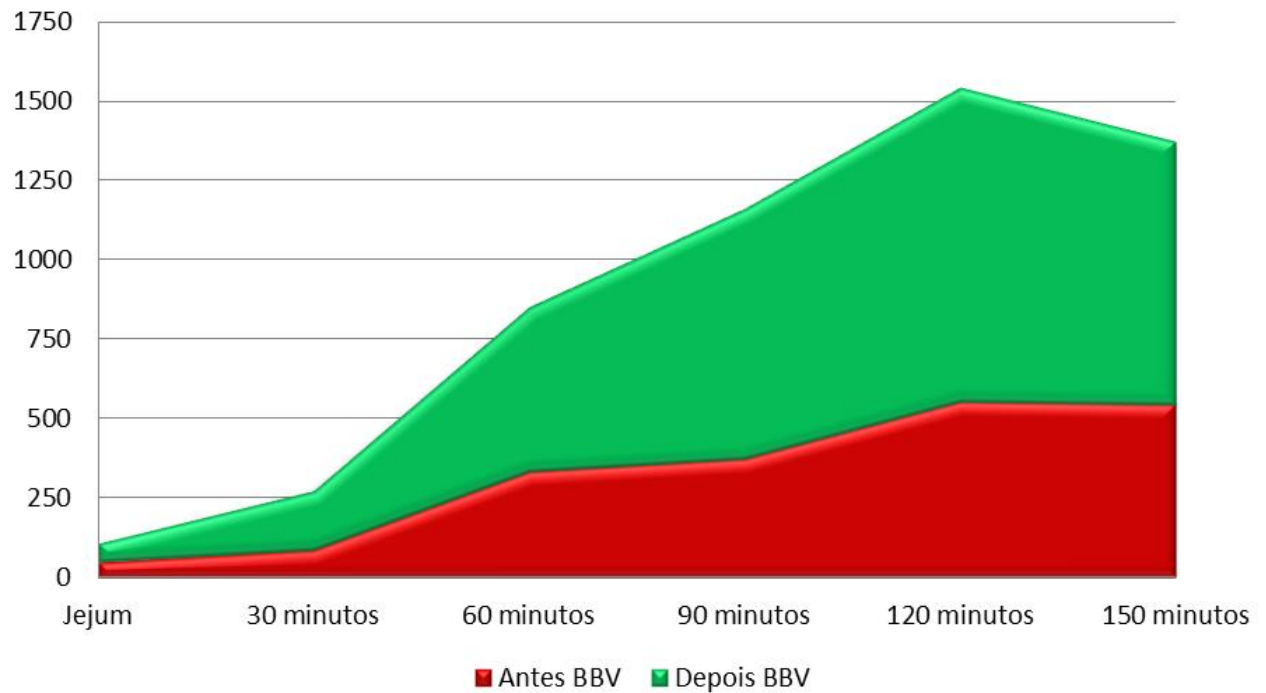
A Tabela 02 resume a produção de H₂ no ar expirado em ppm antes e depois da intervenção com BBV em diferentes tempos da coleta. No final da intervenção houve um aumento estatisticamente significativo da produção de H₂ em todos os tempos de avaliação, sendo a maior diferença no tempo de 120 minutos.

Tabela 02 Comparações das medianas da produção de H₂ no ar expirado em diferentes tempos, antes e após oito semanas de intervenção com biomassa de banana verde

	H ₂ ar expirado em ppm (IQR)		
	Antes	Depois	p*
Jejum	3.0 (2.0-5.2)	4.0 (3.0-8.0)	0.001
30 minutos	1.0 (0-2.2)	3.0 (1.0-7.0)	0.007
60 minutos	4.5 (1.0-21.2)	13.0 (5.5-24.0)	0.02
90 minutos	5.5 (2.0-19.2)	18.0 (11.7-36.2)	0.0002
120 minutos	13.5 (4.0-27.2)	25.5 (12.0-43.0)	<0.0001
150 minutos	12.5 (4.0-24.2)	22.0 (10.0-35.7)	0.0008

ppm (partes por milhão); IQR (Intervalo Interquartil). *Teste de Wilcoxon.

A Figura 02 apresenta a produção acumulativa de H₂ utilizando a AUC da produção de H₂ no ar expirado (ppm/minuto) avaliada pelo THE após ingestão de lactulose antes e após 08 semanas de intervenção com BBV em crianças com CF. Observamos que houve maior produção de H₂ com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.0001$).



	0-30 minutos	30-60 minutos	60-90 minutos	90-120 minutos	120-150 minutos	AUC total	valor p*
Antes	89	334	374	553	544	1253 (416 – 2430)	< 0,0001
Depois	189	519	789	989	828	2423 (1380-4028)	

AUC (Área Sob a Curva). *Teste de Wilcoxon.

Figura 02: Produção acumulativa de H₂ (AUC) da produção de H₂ no ar expirado (ppm/minuto) avaliada pelo teste de H₂ expirado após ingestão de lactulose

A Tabela 03 apresenta a comparação da produção de H_2 no ar expirado nos diferentes tempos de coleta antes da intervenção com BBV para os grupos que ficaram sem e com o uso de laxante após a realização do primeiro THE. Observamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos para todos os momentos avaliados, exceto para o jejum.

Tabela 03 Comparações da produção de H_2 no ar expirado em diferentes tempos de coleta antes da intervenção com biomassa de banana verde para os grupos sem e com o uso de laxante.

	H_2 ar expirado em ppm (IQR)		
	Sem laxante	Com laxante	p*
Jejum	2.0 (1.0-3.0)	4.5 (2.0-7.0)	0.01
30 minutos	1.0 (0-2.0)	1.0 (0.7-3.0)	0.81
60 minutos	6.0 (1.0-18.0)	4.0 (0.7-26.0)	0.89
90 minutos	5.5 (2.5-18.2)	5.5 (2.0-19.5)	0.99
120 minutos	11.5 (4.0-27.5)	13.5 (3.9-27.2)	0.95
150 minutos	10.5 (2.5-22.7)	14.5 (6.7-28.2)	0.45

ppm (partes por milhão); IQR (Intervalo Interquartil). *Teste de Mann-Whitney

A Tabela 04 apresenta a comparação da produção de H₂ no ar expirado nos diferentes tempos de coleta após a intervenção com BBV para os grupos sem e com o uso de laxante. Observamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos para todos os momentos avaliados.

Tabela 04 Comparações da produção de H₂ no ar expirado em diferentes tempos em minutos após oito semanas de intervenção com biomassa de banana verde para os grupos sem e com laxante.

H ₂ ar expirado em ppm (IQR)			
	Sem laxante	Com laxante	p*
Jejum	4.0 (3.0-7.2)	4.0 (3.0-8.2)	0.71
30 minutos	2.0 (1.0-4.7)	4.5 (1.0-7.0)	0.33
60 minutos	13.5 (7.0-27.2)	11.5 (4.0-24.0)	0.67
90 minutos	13.5 (8.0-31.7)	21.0 (16.2-43.0)	0.30
120 minutos	20.5 (11.0-39.2)	27.0 (15.5-49.2)	0.52
150 minutos	16.0(10.5-32.0)	26.0 (8.0-39.7)	0.56

ppm (partes por milhão); IQR (Intervalo Interquartil). *Teste de Mann-Whitney

Os efeitos adversos durante o THE foram respectivamente para os grupos sem e com laxante: náusea (03; 04), eructação (00; 01), distensão abdominal (01; 01), dor abdominal (02; 01), flatulência (03; 02), sendo que não houve nenhum caso de diarreia.

A Síndrome de supercrescimento bacteriano no intestino delgado foi observada em 04 e 05 crianças, respectivamente, para os grupos sem laxante e com laxante, antes da suplementação com BBV e em 05 crianças em cada grupo após a suplementação, sem diferença estatisticamente significativa.

O número de crianças não produtoras de H₂ antes e após a suplementação da BBV segundo os critérios estabelecidos foi respectivamente de 14 e 02 (p<0,001). Não houve diferença para não produtores de H₂ entre os grupos sem e com laxante antes e após a suplementação.

A Figura 03 apresenta a variação das características de sintomas relacionados à CF antes e após a ingestão prolongada de BBV por 08 semanas consecutivas. Os valores correspondem à percentagem de crianças. No final do período de intervenção, houve uma redução estatisticamente significativa na proporção de crianças com incontinência fecal >01 /semana, dor para evacuar e dor abdominal. Também houve uma percentagem estatisticamente significativa de crianças que tiveram aumento na classificação de Escala Fecal de Bristol ≥ 03 e na frequência evacuatória ≥ 03 /semana.

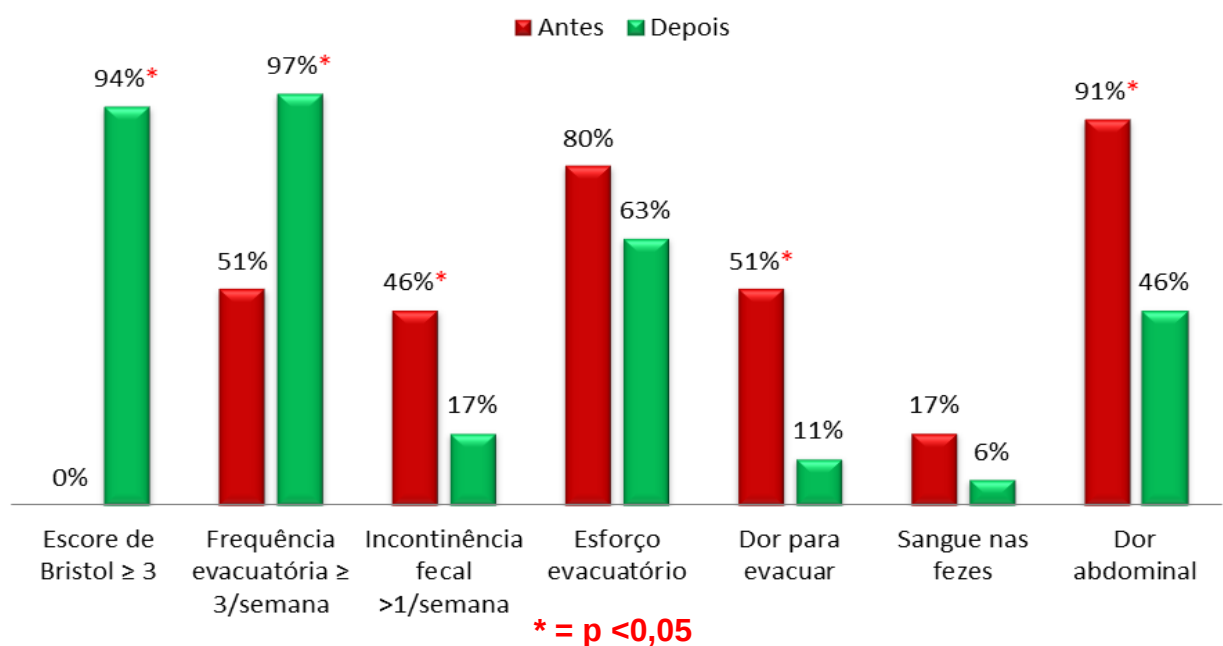


Figura 06: Características clínicas das crianças com constipação funcional antes e após a intervenção com biomassa de banana verde.

5. DISCUSSÃO

Em estudo prévio realizado pelo mesmo grupo, associando o uso de BBV com laxantes em crianças e adolescentes com CF ⁶², foram demonstradas as propriedades terapêuticas da BBV, através de resultados da redução de sintomas associados a CF e da dose de laxante consumida. Já nesse presente estudo, elucidamos o papel da fermentação do AR para explicar os resultados positivos da BBV no tratamento da constipação.

A força deste estudo incluiu: a homogeneidade das características demográficas e clínicas das crianças na entrada do estudo e alta adesão ao cronograma de tratamento.

Esse estudo foi realizado com teste respiratório que representa uma ferramenta válida e não invasiva de diagnóstico em muitas condições gastroenterológicas. Por ter como critério de inclusão crianças a partir de 06 anos de idade, não houve dificuldade na realização do THE e os efeitos adversos, referentes à ingestão da lactulose como substrato durante o THE foram de baixa frequência.

Considerando a precisão dos aparelhos para detecção de H₂, os critérios adotados no estudo são adequados para considerar o indivíduo como produtor de H₂ ^{76,78}. No entanto, alguns indivíduos não produzem H₂ ao THE para avaliação da fermentação intestinal de CHO. Este processo ocorre devido à utilização eficiente de H₂ por bactérias metanogênicas e/ou bactérias redutoras de sulfato. Essa é uma limitação deste estudo, já que cerca de 15% a 30% da população humana adulta tem a bactéria *Methanobrevibacter smithii*, que converte H₂ em CH₄ e pode influenciar a precisão diagnóstica do THE. Por conseguinte, a medição simultânea de CH₄ pode oferecer vantagens ^{79,80}, especialmente naqueles que não produzem H₂. No entanto, um entre dois não produtores de H₂ também não é produtor de CH₄. Dessa forma, o rendimento do uso de CH₄ naqueles que não produzem H₂ é muito pequeno. Em conclusão, o H₂ parece ser ainda o melhor marcador de fermentação bacteriana do que o CH₄. Com o uso de instrumento de menor custo utilizado neste estudo, que detecta somente o H₂, apenas alguns resultados positivos poderiam ter sido perdidos.

Este estudo utilizou a concentração de H₂ no ar expirado como marcador indireto do aumento da fermentação intestinal, avaliada pelo THE. Para realização do THE foi

utilizada a lactulose oral como substrato da fermentação, pois quando esta entra em contato com a microbiota colônica é rapidamente fermentada no trato gastro intestinal indicando a capacidade das bactérias para gerar H_2 no processo de fermentação colônica ⁸¹. Dessa forma utilizamos o paciente como controle dele mesmo para avaliar se houve aumento da produção de H_2 após a suplementação prolongada de BBV. O principal resultado do estudo é que houve esse aumento da fermentação colônica, a AUC que integra os dados nos tempos de coleta representa a melhor maneira de estimar a produção de H_2 em um dado período de tempo. Assim, a produção total de H_2 foi significativa após suplementação de BBV.

A FA atinge o cólon intacto e pode ser fermentada por bactérias colônicas específicas e convertida em AGCC e gases (H_2 , CH_4 e CO_2). Os AGCC exercem efeitos fisiológicos e promovem o crescimento de bactérias benéficas, como bifidobactérias e lactobacilos. A extensão da fermentação depende do tipo de FA, e a BBV possui fibras solúveis que são facilmente fermentáveis pela microbiota colônica em maior intensidade do que fibras insolúveis ^{6,82}.

O termo AR refere-se à soma de amido e produtos de degradação de amido que não foram absorvidos no intestino delgado de seres humanos saudáveis ³⁵. Portanto, as FA fermentáveis e o AR podem fornecer uma série de benefícios para a saúde, especialmente alterando a composição da microbiota intestinal. A fermentação anaeróbica microbiana de AR e a capacidade de regular a microbiota intestinal levam à expansão seletiva de grupo bacteriano benéfico, e este é chamado de efeito "prebiótico". Assim, o AR pode ser considerado como candidato a "prebiótico", pois beneficia o hospedeiro estimulando o crescimento de um número limitado de bactérias benéficas no cólon ⁸³⁻⁸⁷.

No entanto, o efeito prebiótico foi atribuído a muitos componentes alimentares, às vezes sem a devida consideração aos critérios exigidos. Em particular, muitos alimentos oligossacarídeos e polissacarídeos (incluindo fibras alimentares) foram reivindicados para ter atividade prebiótica, mas nem todos os CHO alimentares são prebióticos. Assim, Gibson e Roberfroid ⁸⁸ definiram os prebióticos como "ingredientes alimentares não digeríveis que afetam de forma benéfica o hospedeiro estimulando seletivamente o crescimento e/ou atividade de um ou um número limitado de bactérias no cólon e, assim, melhoram a saúde do hospedeiro" ^{89,90}.. Roberfroid et al. ⁹⁰ posteriormente definiram três características

importantes para que os ingredientes sejam classificados como prebióticos: não sofrer absorção no sistema gastrointestinal (isto é, resistente às enzimas alimentares e ao ácido gástrico); apresentar fermentação colônica pela microbiota intestinal; ter estimulação específica de espécies presumivelmente saudáveis e/ou da atividade da microbiota (por exemplo, uma mudança de fermentação proteolítica para sacarolítica) e associação com benefícios para a saúde e bem-estar do hospedeiro.

A partir da descrição acima, é evidente que as duas primeiras características são comuns às FA e aos prebióticos. O que torna os prebióticos diferentes das FA é a estimulação específica da microbiota. Assim, os efeitos prebióticos, com base na mudança na composição microbiana e na atividade metabólica, podem ter muito mais impacto na saúde humana. Posteriormente, há evidências acumuladas de que os prébióticos possuem várias propriedades promotoras da saúde: aumentar a absorção de minerais, potenciais propriedades anti-câncer, metabolismo lipídico, antiinflamatórios e efeito laxativo ⁹¹⁻⁹³.

Banana é uma das frutas com maior consumo por pessoas de todas as faixas etárias. Nutricionalmente, as bananas contêm CHO disponíveis que fornecem energia, vitaminas B e C e quantidades significativas de potássio e magnésio ⁹⁴. Também é uma boa fonte de FA solúvel e de AR, que tem o potencial de proporcionar benefícios significativos para a saúde ⁵⁷.

Quando verdes, as bananas podem ser adequadas para produzir produtos alimentares com alto teor de AR, como a BBV e o potencial de fornecer vários benefícios significativos para a saúde e um valor agregado aos produtos alimentares ⁷. Um dos interesses atuais relativos ao AR é seu potencial para ser usado como um prebiótico, que é um ingrediente alimentar não digerível que beneficia o hospedeiro, estimulando o crescimento ou atividade de um ou um número limitado de bactérias benéficas no cólon. Mitsou et al. ⁹⁵ mediram o efeito do consumo de banana (02 por dia) em microbiota e observaram aumentos nas bifidobactérias.

Como a banana é facilmente encontrada em países da América do Sul, principalmente no Brasil, esses resultados mostram o alto potencial de uso da BBV no tratamento da CF com baixo custo e preparação simples.

Observamos neste estudo que houve aumento estatisticamente significativo na proporção de crianças que passaram a ser produtoras de H_2 após a suplementação com BBV ($p < 0,001$), segundo os critérios estabelecidos. Indicando que essas 12 crianças, na verdade eram produtoras de H_2 , mas que anterior ao uso da BBV não havia substrato suficiente para que houvesse produção de H_2 e após o uso prolongado da BBV por 08 semanas consecutivas esse valor aumentou significativamente. Não houve diferença para não produtores de H_2 nos grupos sem e com laxante, tanto antes como após a suplementação.

O resultado desse estudo pode sugerir que os efeitos da BBV tiveram papel no estímulo para o crescimento de uma microbiota fermentadora e produtora de H_2 , e posterior produção de AGCC pela microbiota no cólon após exposição à FA e AR presentes na BBV, com consequente melhora da constipação crônica de crianças avaliadas, sem ter influência pelo uso do laxante.

Foi demonstrado nesse estudo que o consumo de 30 g/dia de BBV por 08 semanas reduziu a proporção de crianças com classificações 01 ou 02 da Escala Fecal de Bristol, o esforço e a evacuação dolorosa. A utilização da Escala Fecal de Bristol como desfecho primário é outro forte ponto do estudo, já que a escala é recomendada para uso em crianças com constipação antes e depois da publicação dos Critérios Roma IV ⁹⁶⁻⁹⁸. Portanto, classificar a evolução do padrão fecal de acordo com a consistência das fezes é útil para avaliar a eficácia da intervenção na CF.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados do estudo mostraram que a suplementação de BBV ao tratamento rotineiro da CF em crianças provocou uma maior fermentação colônica medida através do THE com lactulose, sem diferenças entre os grupos sem e com uso de laxante associado.

Os efeitos adversos avaliados durante o THE foram mínimos em ambos os grupos, demonstrando que o THE com o uso de lactulose foi bem tolerado pelo grupo de estudo.

Houve mudanças de sinais e sintomas significantes associados a CF, como melhora na frequência evacuatória e Escala de Bristol, redução de dor para evacuar, dor abdominal e sangue nas fezes.

Entretanto, ainda existem lacunas na literatura relativas a muitos alimentos com efeitos no trato gastrointestinal, como frutas. Assim, mais estudos são necessários para elucidar o papel da fermentação de frutas e de fontes de AR e da microbiota intestinal nos resultados positivos da BBV no tratamento da CF.

8. REFERÊNCIAS

1. Bijlani, RL. Dietary fibre: consensus and controversy. *Prog Food Nutr Sci* 1985, 9:343-93.
2. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, O'Keefe JH, Brand-Miller J. Origins and evolution of the western diet: Health implications for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;8:341–54.
3. Lerner A & Branski D. Carbohydrates in Pediatric Nutrition in Health and Disease. *World Rev. Nutr. Diet.* (Basel) 1989; 58:103-30.
4. American Association of Cereal Chemists. The definition of dietary fiber: report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association of Cereal Chemists. *Cereal Foods World.* 2001; 46:112-26.
5. Institute of Medicine; Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Washington (DC): National Academies Press; 2005.
6. Howlett JF, Betteridge VA, Champ M, Craig SA, Meheust A, Jones JM. The definition of dietary fiber—discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: building scientific agreement. *Food Nutr Res.* 2010;54:5750.
7. Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Alvarez JA. Resistant starch as functional ingredient: a review. *Food Res Int.* 2010; 43:931–42
8. Trowell H. Definition of fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases. *Am J Clin Nutr* 1976; 29: 417-27.
9. Topping, D.L.; Clifton, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function, roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.* 2001; 81, 1031-64.
10. O'Hara AM & Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006; 7:688–93.
11. Tsai F & Coyle WJ. The microbiome and obesity: is obesity linked to our gut flora? *Curr Gastroenterol Rep.* 2009; 11:307–13.
12. Stephen AM & Cummings JH. Mechanism of action of dietary fibre in the human colon. *Nature.* 1980, 284:283-4.

13. Cummings JH. Fermentation in the human large intestine: evidence and implications for health. *Lancet* 1983, 1:1206-8.
14. Cummings JH, Pomare E., Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, 1987, 28:1221-7.
15. Bergman EN. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews*. 1990; 70:567–90.
16. Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27:104-19.
17. Macfarlane, GT & Macfarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J. AOAC Int*, 2012, 95: 50–60.
18. Sivaprakasam S, Prasad PD, Singh N. Benefits of Short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. *Pharmacol Ther*. 2016;164: 144-51.
19. Levitt MD. Production and excretion of Hydrogen gas in man. *N Eng J Med*, 1969;281:122-7.
20. Levitt MD & Donaldson RM. Use of respiratory hydrogen (H₂) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J Lab Clin Med* 1970; 75: 937–45.
21. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G et al. Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: The Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29 (1):49.
22. Brummer RJM, Armbrecht U, Bosaeus I, Dotevall G, Stock-Bruegger RW. The hydrogen (H₂) breath test. Sampling methods and the influence of dietary fibre on fasting level. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20:1007-13.
23. Satta PU, Anania C, Astegiano M, et al. H₂-breath testing for carbohydrate malabsorption. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29:14-7.
24. Di Stefano M, Certo M, Colecchia A, et al .H₂-breath tests: methodological audits in adults and children. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29:8-13.
25. Christl SU, Murgatroyd PR, Gibson GR, Cummings JH. Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine. *Gastroenterology*. 1992;102:1269–77.

26. Sahota SS, Bramley PM & Menzies IS. The fermentation of lactulose by colonic bacteria. *Journal of General Microbiology* 1982; 128, 319–25.
27. Paul AA & Southgate DAT. The composition of the foods. Fourth edition (revised). H.M. Stationary Office. London 1979, 418p.
28. Kelsay JL, Kay KM, Prather ES. Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. I. Bowel transit time, number of defecations, fecal weight, urinary excretions of energy and nitrogen and apparent digestibilities of energy, nitrogen and fat. *Am J Clin Nutr* 1978; 31:1149-53.
29. Olmsted WMH, Curtis G, Timm OK. Cause of laxative effect of feeding bran pentosan and cellulose to man. *Proc Soc Exp Biol Med* 1934; 32:141-2.
30. Harris PL, Charleston SC, Polland GL. The effect of bananas on laxation. *J. Lab Clin Med* 1939; 24:580-2.
31. Hubacher MH & Doernberg S. Laxatives. II. Relationship between structure and potency. *J Phar Sci* 1964; 53:1067-72.
32. Walker ARP. Effect of high crude fiber intake on transit time and the absorption of nutrients in South African negro schoolchildren. *Am J Clin Nutr* 1975 28:1161-9.
33. Kramer P, Kearney MM, Ingelfinger FJ. The effect of specific foods and water loading on the ileal excreta of ileostomized human subjects. *Gastroenterology*, 1962; 42:535-46.
34. Kramer P. The meaning of high and low residue diets. *Gastroenterology* 1964; 47:649-52.
35. Englyst HN & Cummings JH. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *Am J Clin Nutr* 1986 44:42-50.
36. Burroughs SE & Calloway DH. Gastrointestinal response to diets containing pineapple. *J Am Diet Assoc* 1968 53:336-41.
37. Hickey CA, Calloway DH, Murphy EL. Intestinal gas production following ingestion of fruits and fruit juices. *Dig Dis* 1972;17:383-9.
38. Truswell AS, Seach JM, Thorburn AW. Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of glucose. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:1424-30.
39. Andersson DEH & Nygren A. Four cases of long-standing diarrhoea and colic pains cured by fructose-free diet - A pathogenetic discussion. *Acta Med Scand* 1978 203:87-92.

40. Kneepkens CMF, Vonk RJ, Fernandes J. Incomplete intestinal absorption of fructose. *Arch Dis Child* 1984 59:735-8.
41. Hyams JS & Leichtner AM. Apple juice. An unappreciated cause of chronic diarrhea. *Am J Dis Child* 1985; 139:503-5.
42. Kneepkens CMF, Jakobs C, Douwes AC. Apple juice, fructose and chronic nonspecific diarrhoea. *Eur J Pediatr* 1989; 148:571-3.
43. Hyams JS, Etienne NL, Leichtner AM, Theuer RC. Carbohydrate malabsorption following fruit juice ingestion in young children. *Pediatrics* 1988, 82:64-8.
44. Hatch TF. Encopresis and constipation in children. *Pediatr Clin North Am.* 1988; 35:257–80.
45. McClung HJ, Boyne L, Heitlinger L. Constipation and dietary fiber intake in children. *Pediatrics.* 1995; 96:999–1001.
46. Morais MB, Vitolo MR, Aguirre AN, Fagundes-Neto U. Measurement of low dietary fiber intake as a risk factor for chronic constipation in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 29:132–5.
47. Williams CL, Bollella MC, Strobino BA, Boccia L, Campanaro L. Plant stanol ester and bran fiber in childhood: effects on lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. *J Am Coll Nutr.* 1999; 18:572–81.
48. Emery EA, Ahmad S, Koethe JD, et al. Banana flakes control diarrhea in enterally fed patients. *Nutr Clin Pract.* 1997; 12:72–5.
49. Rabbani GH, Albert MJ, Rahman H, et al. Short-chain fatty acids improve clinical, pathologic, and microbiologic features of experimental shigellosis. *J Infect Dis.* 1999; 179:390 –7.
50. Ramakrishna BS, Venkataraman S, Srinivasan P, Das P, Young GP, Binder HJ. Amylase-resistant starch plus oral rehydration solution for cholera. *N Engl J Med* 2000; 342:308–13.
51. Hills BA & Kirkwood CA. Surfactant approach to the gastric mucosal barrier: protection of rats by banana even when acidified. *Gastroenterology* 1989; 97:294-303.
52. Arora A & Sharma MP. Use of banana in non-ulcer dyspepsia. *Lancet* 1990; 335:612–3.

53. Tripathy BM & Misra NP. Double-blind, randomized study of indigenous compound (banana powder) in the management of peptic ulcer. *J Assoc Physicians India* 1986; 34:58–60.
54. Zandonadi, RP. Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten. Brasília Dissertação [Doutorado em Ciências da Saúde] – Universidade de Brasília; 2009.
55. Ramos DP, Leonel M, Leonel S. Amido resistente em farinhas de banana verde, *Alim Nutr. Araraquara* 2009;20(3): 479-83.
56. Faisant N, Buleon A, Colonna P, et al. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. *Brit J Nutr.* 1995a; 73:111–23.
57. Faisant N, Gallant DJ, Bouchet B, et al. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *Eur J Clin Nutr.* 1995b; 49:98-104.
58. Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol.* 2006;40(3):235-43.
59. Roy CC, Kien CL, Bouthillier L, et al. Short-chain fatty acids: ready for prime time? *Nutr Clin Pract.* 2006; 21:351–66.
60. Rabbassa AA & Rogers AI. The role of short-chain fatty acid metabolism in colonic disorders. *Am J Gastroenterol* 1992; 87:419–23.
61. Roediger WEW. The imprint of disease on short-chain fatty acid metabolism by colonocytes. In: Binder HJ, Cummings J, Soergel KH, eds. *Short-chain fatty acids*. London: Kluwer Academic, 1993:195–205.
62. Cassettari VMG, Machado NC, Lourenção PLTA, Carvalho MA, Ortolan EVP. Combinations of laxatives and green banana biomass on the treatment of functional constipation in children and adolescents: a randomized study. *J Pediatr* doi: 10.1016/j.jped.2017.10.011.
63. Rajindrajith S & Devanarayana NM. Constipation in Children: Novel Insight Into Epidemiology, Pathophysiology and Management. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011; 17(1): 35–47.
64. Morais MB & Maffei HVL. Constipação intestinal. *J. Pediatr. (Rio J.)* 2000; 76(2): 147-56.

65. Sanchez MI & Bercik P. Epidemiology and burden of chronic constipation. *Can J Gastroenterol*. 2011; 25: 11-5.
66. Andrews CN & Storr M. The pathophysiology of chronic constipation. *Can J Gastroenterol*. 2011; 25:16-21.
67. Faleiros FT & Machado NC. Assessment of health-related quality of life in children with functional defecation disorders. *J Pediatr (Rio J)* 2006; 82:421–5.
68. Youssef NN, Langseder AL, Verga BJ, et al. Chronic childhood constipation is associated with impaired quality of life: a case-controlled study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41:56-60.
69. Clarke MCC, Chow CS, Chase JW, et al. Quality of life in children with slow transit constipation. *J Pediatr Surg* 2008; 43:320-4.
70. Williams, CL et al. A new recommendation for dietary fiber in childhood. *Pediatr*. 1995; 96:985-8.
71. Hyams JS, Di Lorenzo C, Saps M, Shulman RJ, Staiano A, van Tilburg M. Functional Disorders: Children and Adolescents. *Gastroenterology* 2016; 150:1456-68.
72. Martinez AP, Azevedo GR. The Bristol Stool Form Scale: its translation to Portuguese, cultural adaptation and validation. *Rev Latino-Am Enfermagem* 2012; 20:583-9.
73. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. *Incorporação da curvas de crescimento da Organização Mundial da Saúde de 2006 e 2007 no S/SVAN*. Disponível em <http://www.saude.gov.br/nutricao> [Acessado em 25 de outubro de 2017]
74. Tabbers MM, DiLorenzo C, Berger MY, Faure C, Langendam MW, Nurko S, Staiano A, Vandenplas Y, Benninga MA. Evaluation and treatment of functional constipation in infants and children: evidence-based recommendations from ESPGHAN and NASPGHAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 258-74.
75. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, Schmulson M, Valdovinos M, Zakko S, Pimentel M and on behalf of The North American Consensus group on hydrogen and methane-based breath testing. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol* 2017; 112:775–784

76. Bate JP, Irving PM, Barrett JS, Gibson PR. Benefits of breath hydrogen testing after lactulose administration in analyzing carbohydrate malabsorption. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2010, 22:318–326
77. Eisenmann A, Amann A, Said M, Datta B, Ledochowski M. Implementation and interpretation of hydrogen breath tests. *J Breath Res* 2008; 2: 046002.
78. Karcher RE, Truding RM, Stawick LE. Using a cutoff of < 10 ppm for breath hydrogen testing: a review of 5 years experience. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29:1–8.
79. Pimentel M, Mayer AG, Park S, Chow EJ, Hasan A, Kong Y. Methane production during lactulose breath test is associated with gastrointestinal disease presentation. *Dig Dis Sci* 2003; 48:86–92.
80. Chatterjee S, Park S, Low K, Kong Y, Pimentel M. The degree of breath methane production in IBS correlates with the severity of constipation. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:837–841.
81. Flourie B, Etanchaud F, Florent C, Pellier P, Bouhnik Y, Rambaud JC. Comparative study of hydrogen and methane production in the human colon using caecal and faecal homogenates. *Gut* 1990; 31:684–685.
82. Brownawell, A M, Lewis, K D, Caers W, Gibson G R, Kendall C W C, Lewis K D, et al. Prebiotics and the health benefits of fiber: current regulatory status, future research, and goals. *Journal of Nutrition*, 2012 ,142:962–74.
83. Lehmann U, Jacobasch G & Scmiedl D. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agriculture Food and Chemistry* 2002; 50: 5236–40.
84. Lunn J & Buttriss JL. Carbohydrates and dietary fiber. *Nutrition Bulletin*, 2007; 32: 21 -64.
85. Nugent A P. Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 2005, 30: 27-54.
86. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. Resistant starch: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2005, 5: 1-17.
87. Vatanasuchart N, Niyomwit B, Wongkrajang K. Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo Int J Sci Technol*. 2012; 6:259-71.
88. Gibson GR & Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125(6):1401-12.

89. Gibson, GR., Probert, HM., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 2004. 17, 259–75.
90. Roberfroid M, Gibson G R, Hoyles L, McCartney A L, Rastall R, Rowland I, et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 2010, 104(2) S1–S63.
91. Calame W, Weseler AR, Viebke C, Flynn C, Siemensma AD. Gum arabic establishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner. *Br J Nutr*. 2008, 100: 1269-1275.
92. Saulnier DM, Kolida S, Gibson GR. Microbiology of the human intestinal tract and approaches for its dietary modulation. *Current Pharmaceutical Design*, 2009; 15:1403–14.
93. Macfarlane GT & Macfarlane S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2011, 45 (S120–S127).
94. Aurore G, Parfait B, Fahrasmane L. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends Food Sci Technol*, 2009, 20:78-91.
95. Mitsou EK, Kougia E, Nomikos T, Yannakoulia M, Mountzouris KC, Kyriacou A. Effect of banana consumption on faecal microbiota: a randomized, controlled trial. *Anaerobe* 2011, 17:384–387.
96. Bardisa-Ezcurra L, Ullman R, Gordon J, on behalf of the Guideline Development Group. Diagnosis and management of idiopathic childhood constipation: summary of NICE guidance. *BMJ*. 2010;340:2585
97. Koh H, Lee MJ, Kim MJ, Shin JI, Chung KS. Simple diagnostic approach to childhood fecal retention using the Leech score and Bristol stool form scale in medical practice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010; 25: 334–8.
98. Russo M, Martinelli M, Sciorio E, Botta C, Miele E, Vallone G, Staiano A. Stool consistency, but not frequency, correlates with total gastrointestinal transit time in children. *J Pediatr*. 2013; 162:1188-92.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise do hidrogênio no ar expirado e do microbioma intestinal em crianças com constipação crônica funcional após a ingestão de biomassa de banana verde.

Pesquisador: Vanessa Mello Granado Cassettari

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 35063414.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Cirurgia e Ortopedia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.316.502

Apresentação do Projeto:

Tratam os autos do envio de Emenda pelos pesquisadores no sentido de atender a solicitação deste Comitê de Ética em Pesquisa através do parecer 1.259.821 no qual foi solicitado alterações no título do projeto de pesquisa, e no cadastro da Plataforma Brasil bem como no TCLE e TALE constando em todos eles o termo "Microbioma Intestinal". Os pesquisadores atenderam a solicitação fazendo as alterações solicitadas.

Objetivo da Pesquisa:

Constante no parecer inicial sobre o número 821.241, complementado por Microbioma Intestinal

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Constante no parecer inicial sobre o número 821.241, complementado por Microbioma Intestinal

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Constante no parecer inicial sobre o número 821.241.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores atenderam a solicitação deste Comitê de Ética em Pesquisa fazendo a inclusão do termo Microbioma Intestinal nos locais descritos no item apresentação do projeto

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

CEP: 18.618-970

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.316.502

Recomendações:

Não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugiro aprovação uma vez que as correções foram realizadas, sem necessidade de envio à CONEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião de 09/11/2015 APROVOU alterações na seguinte conformidade:

Foram alterados o título da pesquisa, TCLE e TALE e no cadastro da Plataforma Brasil incluindo o termo "Microbioma Intestinal".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_597305 E1.pdf	12/10/2015 11:55:14		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	12/10/2015 11:51:54	Vanessa Mello Granado Cassettari	Aceito
Outros	emenda.pdf	12/10/2015 11:36:38	Vanessa Mello Granado Cassettari	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	12/10/2015 11:35:16	Vanessa Mello Granado Cassettari	Aceito
Outros	docnovo.pdf	21/08/2014 12:25:26		Aceito
Outros	autorizaçãooambulatorio.pdf	20/08/2014 21:45:57		Aceito
Outros	chefedpto.pdf	18/08/2014 20:23:12		Aceito
Outros	Diário verde- Anexo VI.pdf	15/08/2014 16:13:20		Aceito
Outros	Diário vermelho- Anexo V.pdf	15/08/2014 16:13:00		Aceito
Outros	Folheto banana- Anexo IV.pdf	15/08/2014 16:12:35		Aceito
Outros	Anexo III.pdf	15/08/2014 16:12:13		Aceito
Outros	Protocolo de pesquisa- Anexo II.pdf	15/08/2014		Aceito

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.316.502

Outros	Protocolo de pesquisa- Anexo II.pdf	16:11:43		Aceito
Outros	relatoriofinaletica.pdf	15/08/2014 16:05:07		Aceito
Outros	cumprimento res 466.pdf	15/08/2014 16:04:14		Aceito
Outros	autorizaçãodeclaração.pdf	15/08/2014 16:03:05		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaraçãooprontuario.pdf	15/08/2014 16:02:25		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	15/08/2014 16:01:11		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 10 de Novembro de 2015

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

ESCALA DE BRISTOL

	Pequenas bolinhas duras, separadas como coquinhos (difícil de sair).
	Formato de língua encaroçada, com pequenas bolinhas grudadas.
	Formato de língua com rachadura na superfície.
	Alongada com formato de salsicha ou cobra, lisa e macia.
	Pedaços macios e separados com bordas bem definidas (fáceis de sair).
	Massa pastosa e fofa, com bordas irregulares.
	Totalmente líquida, sem pedaços sólidos.

Apêndice 01 - Termo de consentimento livre e esclarecido

Você e seu filho (a) estão sendo convidados (as) a participarem como voluntários (as) da pesquisa: **"Análise do hidrogênio no ar expirado em crianças com constipação crônica funcional após a ingestão de biomassa de banana verde"**. A presente pesquisa, para a qual solicitamos a participação do paciente pelo qual o (a) senhor (a) é responsável, terá duração de 35 dias consecutivos. Serão realizadas duas vezes o exame do teste do ar expirado, no qual a criança receberá uma solução aquosa e deverá assoprar o ar em um bocal em períodos de 20 minutos pelo período de 02 horas e também serão analisadas duas amostras de fezes que devem ser trazidas de casa. No período entre os testes será realizada, em ambiente domiciliar, a suplementação de duas colheres de sopa de biomassa de banana verde, acrescida na alimentação diária do seu filho.

Com a finalidade de avaliarmos os efeitos da biomassa de banana verde oferecida, serão aplicados dois questionários em momentos diferentes que deverão ser preenchidos por sete dias consecutivos, para avaliarmos o funcionamento intestinal e o formato das fezes de seu filho (a).

No atendimento ambulatorial serão avaliados peso e altura, além de fatores nutricionais.

Essa pesquisa contribuirá para identificar se a suplementação com a biomassa de banana verde auxiliará na melhora no quadro de constipação, favorecendo pacientes portadores de constipação.

Durante todo o período de estudo a biomassa de banana verde será fornecida gratuitamente, sendo assim, declaramos que a participação não acarretará nenhum tipo de custo para você e também não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Certificado de Consentimento

Eu, _____, responsável pelo(a) menor _____, fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome	Assinatura do Responsável	Data
Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
Nome	Assinatura da Testemunha	Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:

CEP- COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU - UNESP

Chacára Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo - CEP: 18618-970

Telefones: (14) 3880-1608/3880-1609

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: VANESSA MELLO GRANADO CASSETTARI

Telefones: (15) 99728-2022

E-mail: vmgranado@gmail.com

Apêndice 02 - Protocolo de pesquisa**RG:**

Nome: _____		Data nascimento: _____	
Data início constipação / /		Idade: _____ Posição na família: _____	
Mãe: _____	Idade: _____	Grau escolar: _____	Profissão: _____
Pai: _____	Idade: _____	Grau escolar: _____	Profissão: _____
Estado civil: () união estável () não estável			
Número irmãos: _____			
Tempo de sintomas: _____	Incontinência fecal: _____	Tem treinamento esfinteriano: _____	
Idade de início: _____	Sim () Não()	Sim () Não ()	
Frequência das evacuações: _____	Frequência: _____	Treinamento e Constipação: _____	
dia:____ semana:____	dia:____	Antes () Durante () Depois ()	
Cibalosa ()	semana:____	Onde evacua: _____	
Calibrosa ()		Casa () Escola () Outros()	
Endurecida ()		Fobia por vaso sanitário: _____	
Esforço ()	Punição por escape: _____	Sim () Não()	
Dor p/ evacuar ()	Não () Sim ()		
Dor abdominal ()	Qual? _____		
Distensão abdominal ()			
Sangue nas fezes ()			
Outros ()			
Aleitamento: materno exclusivo () aleitamento misto ()			
Apetite: normal () aumentado () diminuído ()			
Lazer: _____ Interação com colegas: _____			
Problemas familiares: _____			
Eventos críticos: _____			
Rendimento escolar: _____			
Peso: _____ Estatura: _____			
Abdome: distensão ()			
Tratamento Anterior: _____			
Medicação oral: _____			
Enema: _____			
Uso de supositório: Sim () Não()			
Faz lavagem intestinal com frequência: Sim () Não()			
Cuidador principal: _____			
Histórico familiar sobre constipação: _____			

Nome: _____ RG: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Início: ____/____/____

DIA 1: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 2: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 3: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 4: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 5: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 6: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

DIA 7: _____

Evacuou hoje: Não () Sim ()

Escala das fezes (Segundo Bristol): 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ()

Uso de laxante: Não () Sim ()

Escapes: Não () Sim () Quantas vezes? _____

Apêndice 04 - Teste do H₂ no ar expirado

TESTE DO HIDROGÊNIO NO AR EXPIRADO

REFEIÇÃO-TESTE: _____ QUANTIDADE: _____ g

Nome _____ RG _____ Data _____

DN _____ Proced _____ Idade _____ P _____ kg E _____ cm

H ₂ expirado (ppm)	Sintomas Tempo	Náusea	Arrotos	Distensão Abdominal	Dor Abdominal	Diarréia	Flatulên cia
	0 min - Jejum _____h						
	15 min _____h						
	30 min _____h						
	45 min _____h						
	60 min _____h						
	90 min _____h						
	120 min _____h						
	150 min _____h						
	180 min _____h						

Observação:

- Sempre pergunta se o paciente fez uso de metronidazol ou antibióticos no mês que antecede o exame ⇒ muda a data, se for o caso

Biomassa de banana verde

Benefícios:

- O amido resistente está presente na banana verde e apresenta comportamento semelhante ao da fibra alimentar, não é digerido e absorvido pelo organismo e estimula o funcionamento adequado do intestino.
- Alimento com sabor suave.
- Sem custo.

Utilização:

- Pode ser acrescentado em preparações líquidas ou com caldos (sem alteração do sabor do alimento):

Feijão	Molhos	Sopa	Leite
Leite fermentado	Suco	Iogurte	

Outros: _____

- * Ou qualquer outro alimento que a criança aceite.
- * Em preparações frias bater no liquidificador
- Oferecer 02 vezes ao dia 01 colher de sopa. Servir primeiro uma pequena porção com toda quantidade de banana para ter certeza que o paciente consumiu a dosagem recomendada.
- * Guardar imediatamente após o uso. Conservar o produto na geladeira.

Cronograma:

- Próximas semanas: manter hábitos alimentares, medicamentos **e acrescentar a biomassa de banana verde todos os dias até o final do tratamento.**

Retirar a banana verde nas datas:

___/___/___ ___/___/___ ___/___/___

___/___/___ ___/___/___ ___/___/___

___/___/___ ___/___/___

Retornar ao ambulatório para consulta na data:

___/___/___

A banana verde é um alimento, por isso não possui efeitos colaterais. De qualquer forma, se surgir alguma dúvida sobre o tratamento e os sintomas no seu filho, entrar em contato com:

Vanessa Granado

Nutricionista

CRN 29758

Telefone: (015) 99728-2022

Email: bananaverdeunesp@gmail.com

Apêndice 06 - Receita biomassa de banana verde

RECEITA BIOMASSA DE BANANA VERDE

1. Pegue 2 unidades de bananas **bem verdes**. Destaque uma banana da outra, mas sem deixar abrir a casca e nem retirar a ponta. Ou seja, toda a parte interna da banana tem que continuar completamente envolta pela casca.
2. Lave as bananas com uma esponja e detergente.
3. Ajeite as bananas dentro de uma panela de pressão e cubra as bananas **com água fervente**. Leve ao fogo. Quando a panela pegar pressão você já desliga e deixa que a pressão saia sozinha.
4. Quando a panela esfriar, abra e jogue a água fora, retire apenas as pontas da banana
5. Bata no liquidificador com casca e acrescente água filtrada até bater e chegar na consistência de “papinha”
6. Coloque em pote fechado e guarde por até uma semana na geladeira.

Consumo: 2 colheres de sopa por dia

Apêndice 07 - Dieta especial para realização do teste do H₂ no ar expirado

RECOMENDAÇÕES PARA REALIZAÇÃO DO TESTE DO H₂ EXPIRADO

- Data do exame: ____/____/____ Horário: ____:____ horas

- O exame não deve ser realizado em pacientes que fizeram uso de metronidazol ou antibióticos no mês que antecede o exame (mude a data, se for o caso)

- Dieta do dia anterior ao exame:

Permitidos:

Arroz, pães, macarrão sem molho

Carnes, hambúrgueres

Ovos

Óleos, manteiga, maionese

Proibidos:

Sucos e frutas

Verduras

Leguminosas (ex: feijão, ervilha, lentilha)

Leite

Açúcares e doces

- Jejum:

• Após as 03:00h da manhã do exame, se menor que 2 anos;

• Após as 22:00h do dia anterior ao exame, se maior que 2 anos.

Green banana biomass elicits a high lactulose hydrogen breath test response after eight weeks' supplementation in children with functional constipation: a randomized controlled trial.

Abstract

Introduction

The non absorbable carbohydrates composed of dietary fiber (DF) and a fraction of starch resistant (RS) constitute a substrate for fermentation by the colonic microbiota with a consequent intraluminal production of short chain fatty acids, hydrogen (H₂), methane and carbon. Thus, the dosing of the expired H₂ air is adequate to evaluate the intestinal fermentation, through the Hydrogen Breath Test (HBT). On the other hand, fruits are a significant source of DF, and the banana stands out as a source of DF and RS because the green banana can contain 10 to 40% of RS. Thus, considering: the recommendation of fruit intake as the source of DF; intestinal fermentation with H₂ production; the validity of HBT in evaluating colonic fermentation.

Objectives

The objectives of the study were to evaluate in children with functional constipation: the intestinal fermentation, through HBT with lactulose, in two moments, before and after the prolonged supplementation of GBB; to evaluate if the production of H₂ in the air exhaled is different in two subgroups of children: without and with the use of laxative; assess the signs and symptoms during HBT; to evaluate the proportion of signs / symptoms of functional constipation before and after GBB supplementation.

Methods

Clinical, interventional, prospective, randomised study of consecutive cases of 38 children referred for treatment of functional constipation. Inclusion criteria: age from 05 to 15 years and functional constipation according to Rome IV Criteria; classification with types 01 or 02 of stool consistency according to the Bristol Stool Form. Exclusion criteria: genetic, neurological, behavioral, cognitive or abdominal surgical procedures.

The children were divided into two groups (with and no laxative). The laxative group received sodium picosulphate. The patients received two tablespoons of GBB for 08 weeks. The HBT with 10 g of lactulose was performed before and after supplementation. The exhaled air samples were collected at 30, 60, 90, 120 and 150 minutes after ingestion of lactulose and analysed for H₂ concentrations in the exhaled air using a portable apparatus and the results and analysed in ppm.

Results

38 children completed the 08-week intervention period, when there was a statistically significant reduction in the proportion of children with a Bristol Stool

Form <3, faecal incontinence >1 week, straining, and abdominal pain. There was also an increase in the percentage of children with ≥ 3 bowel movements/week. GBB was well tolerated and without adverse effects. In the evaluation with HBT, we observed a higher H₂ production after the intervention ($p < 0.0001$) at all evaluation times, with the most significant time difference of 120 minutes and the H₂ cumulative output using the Area Under the H₂ Production Curve ($p < 0.0001$). We also observed that there was no statistically significant difference between the groups without and with laxatives at all moments evaluated, both at and after BBV intervention. The number of no-H₂-producing children before and after GBB supplementation was respectively 14 and 02 ($p < 0.001$). There was no difference for no H₂ producers between the groups without and with laxatives before and after supplementation.

Discussion

The results showed that the consumption of GBB reduced the proportion of children with functional constipation and produced greater colonic fermentation. The laxative effects of DF and RS and the prebiotic effect present in the GBB evaluated in this study may be related to its fermentation and production of short chain fatty acids.

Conclusion

We observed that: there was an increase in the proportion of children who became H₂ producers after GBB supplementation ($p < 0.001$) and that there was no difference in H₂ production in the groups without and with laxatives both before and after supplementation. This result may suggest that GBB had a role in stimulating the growth of a fermentative and H₂-producing microbiota after exposure to DF and RS present in the GBB and that there was no influence on the use of the laxative.

Introduction

Functional constipation is among the most common complaints that bring a child to a pediatric gastroenterology clinic ¹. The prevalence in a systematic review reported a mean and median prevalence in children of 14% and 12% respectively ². In Brazil study reveals that prevalence rates range from 21% to 38%³, representing a public health problem with impairment in quality of life of children⁴, and chronicity, in view of that 30% will continue to have symptoms beyond puberty^{5,6}.

The treatment implicates in laxatives, behavioral interventions and dietary interventions. As low consumption of dietary fiber has been associated with and increased risk factor for functional constipation, the use of a balanced diet with the increase in dietary fiber ingestion must be implemented ⁷. Dietary fiber from fruits enters into the composition of most of the human food menus and, although they have high water content, they become an appreciable source of dietary fiber. Thus, ingestion of fruits would have great applicability in the treatment of constipation ^{8,9,10,11}.

Cassettari et al., 2018¹² evaluated the effect of the green banana biomass with different laxatives, and the results demonstrates there was an improvement in bowel pattern, reduction in symptoms associated with constipation, and decrease in the dosage of laxatives consumed, In certainty green banana is known to contain dietary fiber, and a solid concentration of amylase-resistant starch that is not digested or absorbed in the intestine, and is useful in treating constipation. Indeed, resistant starch has attracted interest because of its positive effects in the human colon and implications for health ^{13,14}. Accordingly, resistant starch could be considered a functional fiber by its indigestible nature and beneficial physiological effects ¹⁵. Therefore, the knowledge of therapeutic properties of resistant starch from green banana should be explored for human dietary applications.

In the colon, the interaction between dietary fiber and resistant starch and the microbiota results in the fermentation and intraluminal production of

short chain fatty acids, hydrogen (H₂), methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) gases. However, the dosing of these gases in the exhaled air, measures indirectly and semi-quantitatively the production of this gas in the colon through the Hydrogen Breath Test (HBT)^{16,17}. In the process of colonic fermentation, the H₂ produced is a sensitive index of the increase in CHO fermentation. A constant fraction of this colonic production is excreted by the lungs.

Lactulose is a synthetic, non-absorbable disaccharide consisting of fructose and galactose, and there is no hydrolase in the human small intestine for its digestion and absorption. Lactulose passes intact through the small intestine and undergoes fermentation by the colonic microbiota with production of AGCC and gases, including H₂ and CH₄. An oral overload of lactulose, therefore, will always be poorly absorbed and exposed to intestinal bacteria, which ferment rapidly. Thus, HBT with lactulose is a marker of bacterial fermentation in the gastrointestinal tract. ().

Objectives

The objectives of the study were to evaluate in children with functional constipation: the intestinal fermentation, through HBT with lactulose, in two moments, before and after the prolonged supplementation of GBB; to evaluate if the production of H₂ in the air exhaled is different in two subgroups of children: without and with the use of laxative; assess the signs and symptoms during HBT; to evaluate the proportion of signs / symptoms of functional constipation before and after GBB supplementation.

Methods

Study design and participants

This is a prospective, interventional, randomized clinical study of consecutively recruited cases of children, referred from Brazilian Public Health System (SUS) to Pediatric Gastroenterology tertiary outpatient clinics of Botucatu Medical School for the treatment of functional constipation. In order to obtain a homogeneous group all patients eligible for the study fulfilled the inclusion criteria: 5 to 15 years of age; toilet trained children; functional constipation according to Rome IV Criteria¹⁹ rating types 1 or 2 of stool

consistency assessed using the 7-point Bristol Stool Form Scale ^{20, 21}, and with no use of drugs. Exclusion criteria: genetic, neurological, behavioral, cognitive or abdominal surgical procedures. Direct contact was used to recruit participants, and they received detailed explanations of the study. All children older than 12 years and parents signed the informed consent form approved by the local Ethical Committee (nº CAAE 35063414.0.0000.5411).

Interventions and outcomes

The protocol was carried out at enrolment of initial 1-week baseline period to establish current bowel habits and after an eight weeks' treatment period. During the study, education to all parents and patients about functional constipation was given by personal instructions and handouts. Children were instructed to try to defecate on the toilet at the same time of the day for 10-15 minutes.

Data on socio-demographic, clinical characteristics and laboratory investigation were collected on the day of the first visit, by using standardized research protocol. Body weight and height were measured, and growth was determined using z-scores according to WHO growth standards.

During the baseline period (before the start of intervention, and during the treatment period (8 consecutive weeks), each patient was monitored throughout a standardized week diary (stool frequency, stool consistency according to the Bristol Stool Form Scale, frequency of fecal incontinence episodes, painful defecation, abdominal pain, excretion of blood, laxative use and their doses. Laxatives were taken and dosed according to clinical guideline reported ¹. The patients' follow-up, clinical evaluation, the frequency of adverse effects, and compliance with the study protocol were carried out at routine clinic appointments every two weeks and via phone calls weekly.

Definitions of clinical outcome measures

The primary outcome measure was the evaluation of colonic fermentation with HBT with lactulose after eight weeks of treatment schedule compared to baseline. Secondary outcome measures were: decline of the proportion of children with stool consistency ratings 1 or 2 using Bristol Stool

Form Scale, increase the proportion of children with >3 bowel movements/week, reduction in the proportion of fecal episodes/week of incontinence and reduction in the straining defecation.

Sample size and Randomization

The sample size was estimated in 38 patients with 19 subjects in each group, based on reduction to 30% of proportion after the intervention of categorical variables with a two-sided significance of 0.05 and a power of 0.8. These subjects were randomly assigned into two treatment groups by a mathematical algorithm generated using StatMate version 1.0 (GaphPad Software, Inc, San Diego, CA, 92121.USA), Children were randomized into one of two intervention groups: 1) Green banana biomass alone; 2) Green banana biomass plus sodium picosulfate. Before the start of the study, all children were submitted to rectal disimpaction. Random allocation sequence was generated by the second author (NCM) and all dietetic interventions by the first author (VMGC).

Preparation, composition, and consumption of study diet

Commercial unripe green dwarf banana (*Musa* sp AAA) was purchased from the local market, and Green Banana Biomass (GBB) was produced by a local grocery store (CNPJ: 140.286.650.001-18), provided weekly, and free of charge. Biomass was prepared from the unpeeled banana. Fruits were washed, cooked in a pressure cooker with boiling water for 20 minutes. Fifty ml of water were added for each 200 g of green banana. After that, the biomass was homogenized and stored at 12° C in a refrigerator. The green banana biomass looked identical as a thick, white, homogenous mass, and had no substantial variation in color, taste, and smell. Good acceptance was achieved adding 2 tablespoons/day (30g) of green banana biomass into juice, yogurt, milk, and soup¹². During weeks 2-9, parents and children were advised verbally and by a leaflet by a research dietitian on to consume their usual diet, and fluid intake. Adherence to green banana biomass intake was planned in the following items: reinforce the importance of ingestion in bi-weekly returns in clinical consultations; reinforcement of the importance of ingestion in the weekly returns for the withdrawal of the biomass of the green banana; strengthening the

importance of ingestion via telephone, made by the author of the study; mixing of green banana biomass in the child's favorite foods, considering the absence of odor and flavor of green banana biomass.

Random samples for resistant starch content in green banana biomass were analyzed according to Goñi et al.²² at Centro de Raízes e Amidos Tropicais of Botucatu Agronomy School (certificate number 035/2014), presenting a mean value of $7.8 \pm 0.2\%$ of resistant starch and $4.4 \pm 0.5\%$ of dietary fiber except for resistant starch.

The Hydrogen Breath Test with lactulose

The test was performed according to the Rome Consensus Conference²³ and the North American Consensus²⁴. The day before procedure, patients were advised by a nutritionist to avoid sources of fermentable carbohydrates and dietary fiber. Meals should consist of rice, different types of meat and egg to reduce the H₂ levels in the fasting. This information was provided in an explanatory leaflet.

The HBT was performed after a fasting period of 08 hours, and a normal baseline hydrogen value (fasting <10 ppm) was necessary to be eligible for inclusion. Then the children ingested 10 g of lactulose diluted in 200 mL of water. The time to ingest lactulose should not be longer than 10 minutes. The exhaled air samples were collected at 30, 60, 90, 120 and 150 minutes (Bate et al, 2010) and analyzed for H₂ concentrations using a portable apparatus (EC60 Gastrolzyer Breath Hydrogen Monitor; Bedfont Scientific, Kent, UK) and the results were recorded in parts per million (ppm). Patients were kept under direct supervision throughout HBT. Physical exercise was not allowed before and during the test because it could interfere with the dosages of H₂ in the expired air. Children were instructed to avoid deep inspiration and not hyperventilate prior to collection. A questionnaire was administered prior to administration of the lactulose solution and at each sampling time of THE sample. The following manifestations were evaluated: nausea, belching, abdominal distension, diarrhea and flatulence. The test should not be performed under (or 4weeks after) antibiotic therapy, or after diagnostic procedures which require bowel cleansing.

Interpretation of HBT

All calculations were based on ΔH_2 which corresponds to the production at a given moment minus the value of the fast. The parameters evaluated in this study were: production of H_2 at each time, and the area under the curve (AUC) that represents an estimate of the total H_2 produced from the fermentation in a given period of time. Non- H_2 producer was considered if in all samples collected it had a $\Delta H_2 < 10$ ppm and/or a $\Delta H_2 > 10$ ppm at a time of collection without H_2 production in an adjacent measure^{25,26}. Bacterial overgrowth syndrome in the small intestine was considered when there was an increased response of ≥ 20 ppm H_2 within 90 minutes after ingestion of lactulose.²³

Statistical methods

Baseline data were expressed as the median and Interquartile range (25-75), and mean and standard deviation depending on the normality of the distribution for continuous variables using Shapiro-Wilk normality test. Categorical variables were presented as counts (n) and percentages (%). Comparison of continuous variables between groups was performed using the Mann-Whitney test. The averages for the paired data were compared by the Wilcoxon test. Categorical variables were analyzed using Fisher's exact test. The corrected area of the baseline under the curve was calculated using the trapezoidal rule. All statistical tests were two-sided and values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. Data management and analysis were performed using GraphPad Prism version 5.00, 2005 for Windows (Graph Pad Software Inc. San Diego, CA, USA).

Results

The Diagram presents flow of 45 consecutive children eligible and enrolled in the study. As a result, 38 (85%) of children with functional constipation completed the 8-week o intervention period. All outcomes data of treatment period were collected for the final analysis.

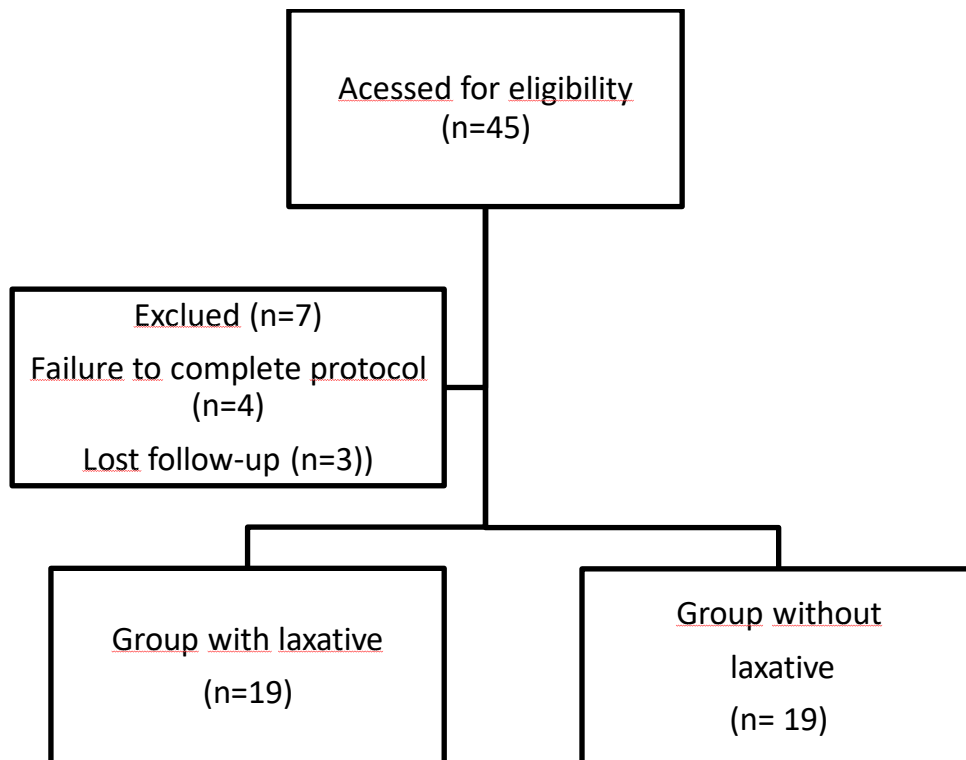


Table 1 presents baseline characteristics of 38 children before intervention with green banana biomass. The median age was 104 months (78-120) and the duration of constipation symptoms were 48 months (30-69). Long times of constipation were observed.

Table 1 Baseline characteristics of children with functional constipation before intervention with green banana biomass.

	Median	IQR
Gender: Male/Female (% Female)	23/15 (40)	-
Age at first visit (months)	104	(78 - 120)
Duration of symptoms (months)	48	(30 - 69)
Age of mothers (years)	37	(34 - 41)
Age of fathers (years)	39	(37 - 45)
Number of rooms	5	(4 - 5.7)
Number of people at home	4	(3 - 5)
Number of children at home	2	(1 - 2)
Crowding index	0.8	(0.7 - 1.0)
Weight z score*	0.43	(-0.88 - 2.22)
Height z score*	0.37	(-0.35 - 1.50)
Body Mass Index z score*	1.71	(-0.14 - 2.56)

*mean $\pm$ standard deviation; IQR (Interquartile range)

Table 2 summarizes the number and percentage of children evaluated before and after intervention with green banana biomass for different variables. At the end of the intervention period, there was a statistically significant reduction in the proportion of children with Bristol Stool Form Scale ratings <3 , fecal incontinence >1 /week, painful during defecation and abdominal pain. There were a statistically significant increased percentage of children with ≥ 3

bowel movements/week. Green banana biomass was well tolerated, and adverse effects were not reported.

Table 2 Clinical characteristics of children with functional constipation. Values are the numbers and percentage of children before and after intervention with green banana biomass.

	Before	After	
	n (%)		p**
BSFS * score ≥ 3	0	33 (94)	<0.0001
Defecation frequency ≥ 3 /week	18 (51)	34 (97)	<0.0001
Fecal incontinence >1 /week	16 (46)	06 (17)	0.01
Straining on defecation	28 (80)	22 (63)	0.1
Painful during defecation	18 (51)	04 (11)	0.0006
Blood in stool	06 (17)	02 (06)	0.2
Abdominal pain	32 (91)	16 (46)	<0.0001

BSFS (Bristol Stool Form Scale); **Fischer's exact test

Table 3 summarizes the Δ Hydrogen concentration in ppm at every recording time before and after intervention with green banana biomass for different minutes. At the end of the intervention there was a statistically significant increase in Hydrogen production in all times of evaluation. The most notable time difference was observed in 120 minutes after lactulose ingestion. The production of ΔH_2 dropped from 14 to 2 children after the GBB ingestion ($p < 0.01$). There was no difference in the production of H_2 between groups with and without laxatives before and after the GBB ingestion. The main result of the study demonstrated that after eight weeks of green banana biomass supplementation produce higher colonic fermentation.

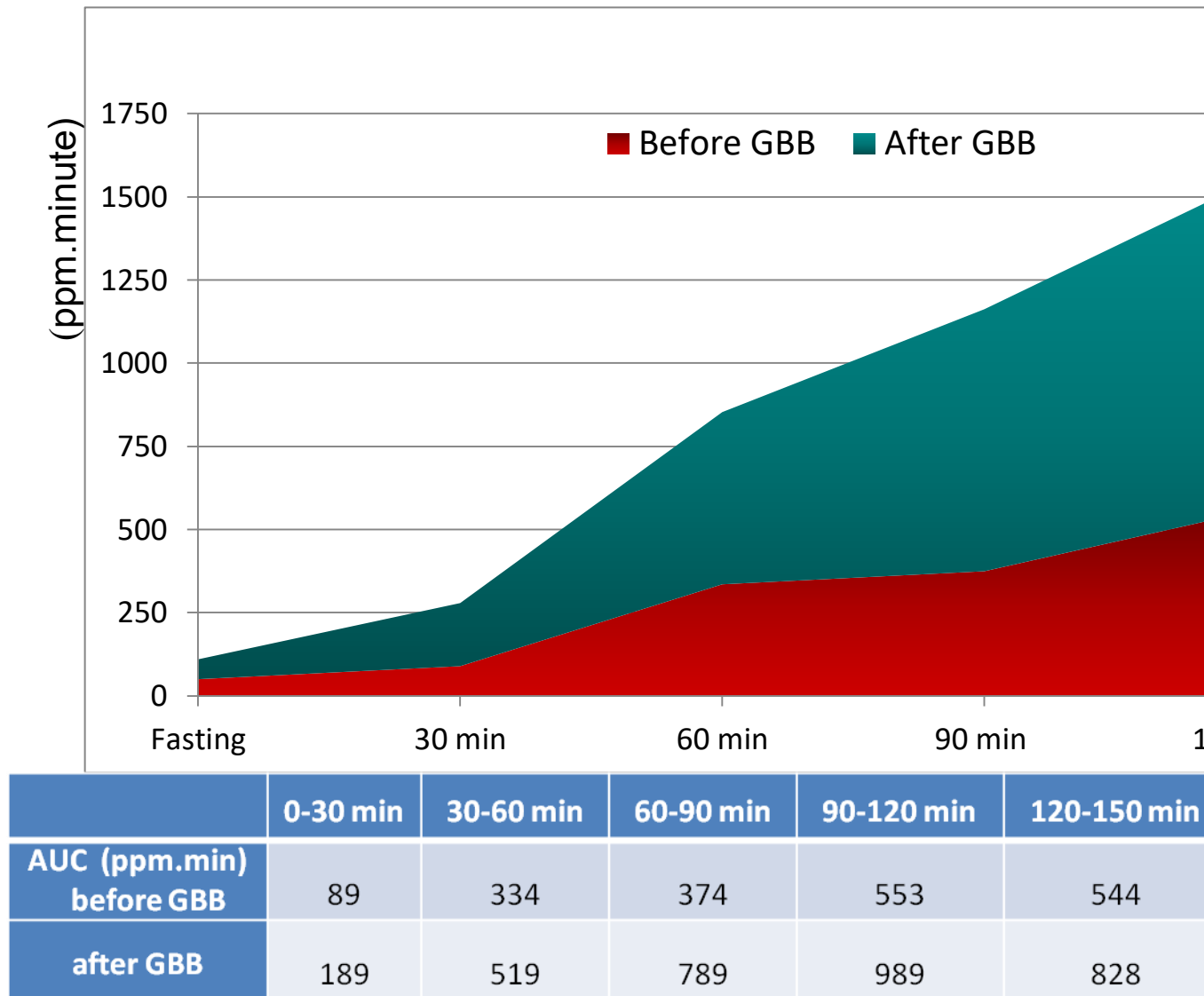
Table 3 Comparisons of Δ Hydrogen concentration in ppm at every recording time evaluated with lactulose breath test in different minutes before and after eight weeks of intervention with green banana biomass in children with functional constipation.

Δ H ₂ expired air in ppm (IQR)			
	Before	After	p value*
Fasting	3.0 (2.0-5.2)	4.0 (3.0-8.0)	0.001
30 minutes	1.0 (0-2.2)	3.0 (1.0-7.0)	0.007
60 minutes	4.5 (1.0-21.2)	13.0 (5.5-24.0)	0.02
90 minutes	5.5 (2.0-19.2)	18.0 (11.7-36.2)	0.0002
120 minutes	13.5 (4.0-27.2)	25.5 (12.0-43.0)	<0.0001
150 minutes	12.5 (4.0-24.2)	22.0 (10.0-35.7)	0.0008

ppm, parts per million; IQR (Interquartile Range). *Wilcoxon matched-pairs signed rank test.

Figure 1 presents Area Under Curve of cumulative production of hydrogen in expired air (ppm/minute) evaluated with lactulose breath test before and after eight weeks of intervention with green banana biomass. At the end of the intervention there was a statistically significant increase in H₂ production ($p < 0.0001$).

Figure 1. Area Under Curve (AUC) evaluated by Hydrogen Breath Test before supplementation with green banana biomass (GBB) in children with fun



Discussion

In a previous study associating the use of GBB with laxatives in children and adolescents with FC¹², demonstrated reduction of symptoms and dose of laxative consumed. In this present study, we elucidate the role of RS fermentation to explain the positive results of GBB in the treatment of constipation. The strength of this study included: the homogeneity of the demographic and clinical characteristics of the children at study admission and high adherence to the treatment schedule. This study was performed with a respiratory test that represents a valid and noninvasive diagnostic tool in many

gastroenterological conditions. As inclusion criteria were children from 06 years of age, there was no difficulty in performing HBT, and the adverse effects related to the ingestion of lactulose as a substrate during HBT were low frequency.

Considering the accuracy of H₂ detection devices, the criteria adopted in the study are adequate to recognise the individual as H₂ producer^{25,26}.

However, some individuals do not produce H₂ for the evaluation of CHO intestinal fermentation. This process occurs due to the efficient use of H₂ by methanogenic bacteria and sulfate-reducing bacteria. This is a limitation of this study since about 15% to 30% of the adult human population has the bacterium *Methanobrevibacter smithii*, which converts H₂ to CH₄ and can influence the diagnostic accuracy of HBT. Therefore, simultaneous measurement of CH₄ may offer advantages^{27,28,29}, especially in those that do not produce H₂.

However, one of two non-H₂ producers is also not a producer of CH₄. Thus, the yield of the use of CH₄ in those that do not produce H₂ is minimal. In conclusion, H₂ appears to be the best marker of bacterial fermentation than CH₄. With the use of HBT lowest cost instrument used in this study, which only detects H₂, only a few positive results could have been lost.

This study used the concentration of H₂ in the expired air as an indirect marker of the increase of the intestinal fermentation, evaluated by HBT. In order to perform HBT, oral lactulose was used as the fermentation substrate, because when it comes into contact with the colonic microbiota, it is rapidly fermented in the gastrointestinal tract indicating the capacity of the bacteria to generate H₂ in the colonic fermentation process³⁰. In this way, we used the patient as his own control to assess where there was an increase in H₂ production after prolonged GBB supplementation. The main result of the study is that there was such an increase in colonic fermentation, The AUC integrating the data at collection times represents the best way to estimate H₂ production in a given period of time. Thus, total H₂ production was significant after GBB supplementation.

DF reaches the colon and can be fermented by specific colonic bacteria and converted to AGCC and gases (H₂, CH₄ and CO₂). AGCCs exert physiological effects and promote the growth of beneficial bacteria, such as

bifidobacteria and lactobacilli. The extent of fermentation depends on the type of DF, and GBB has soluble fibers that are readily fermentable by the colonic microbiota at higher intensity than insoluble fibers ^{31,32}.

The term RS refers to the sum of starch and starch degradation products that were not absorbed in the small intestine of healthy humans ³³. Therefore, fermentable DF and RS can provide a number of health benefits, primarily by altering the composition of the intestinal microbiota. Microbial anaerobic fermentation of RS and the ability to regulate the intestinal microbiota lead to the selective expansion of beneficial bacterial group, and this is called the "prebiotic" effect. Thus, RS can be considered as a candidate for "prebiotic", since it benefits the host by stimulating the growth of a limited number of beneficial bacteria in the colon ^{34,35,36,37}.

However, the prebiotic effect was attributed to many food components, sometimes without due regard to the required criteria. In particular, many oligosaccharide and polysaccharide foods (including dietary fibers) have been claimed to have prebiotic activity, but not all dietary CHOs are prebiotic. Thus, Gibson and Roberfroid (1995)³⁸ defined prebiotics as "no digestible food ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and / or activity of one or a limited number of bacteria in the colon and thus improve the health of the host. host" ^{39,40}. Roberfroid et al. (2010)⁴⁰ subsequently defined three important characteristics for the ingredients to be classified as prebiotics: not to be absorbed into the gastrointestinal system (ie, resistant to food enzymes and gastric acid); present colonic fermentation by the intestinal microbiota; have specific stimulation of presumably healthy species and / or microbiota activity (for example, a change from proteolytic fermentation to saccharolytic) and association with benefits to host health and well-being.

From the above description, it is evident that the first two characteristics are common to DF and prebiotics. What makes prebiotics different from DF is the specific stimulation of the microbiota. Thus, prebiotic effects, based on the change in microbial composition and metabolic activity, may have a much higher impact on human health. Subsequently, there is accumulated evidence that prebiotics have several health promoting properties: increase mineral

absorption, potential anti-cancer properties, lipid metabolism, anti-inflammatories and laxative effect^{41,42,43}.

Banana is one of the fruits with the highest consumption by people of all age groups. Nutritionally, bananas contain available CHOs that provide energy, vitamins B and C and significant amounts of potassium and magnesium⁴⁴. It is also a good source of soluble DF and RS, which has the potential to provide substantial health benefits^{45,46}. When green, bananas may be suitable for producing high-RS food products such as GBB and the potential to provide several significant health benefits and added value to food products⁴⁷. One of the current concerns regarding RS is its potential to be used as a prebiotic, which is a no digestible food ingredient that benefits the host by stimulating the growth or activity of one or a limited number of beneficial bacteria in the colon. Mitsou et al (2011)⁴⁸ measured the effect of banana consumption (02 per day) on microbiota and observed increases in bifidobacteria. As banana is easily found in South American countries, mainly in Brazil, these results show the high potential of use of GBB in the treatment of FC with low cost and simple preparation.

We observed in this study that there was a statistically significant increase in the proportion of children who became H₂ producers after supplementation with GBB ($p < 0.001$) according to established criteria. Indicating that these 12 children were actually producing H₂, but that prior to the use of GBB there was insufficient substrate for H₂ production and after prolonged use of GBB for 08 consecutive weeks this value increased significantly. There was no difference for non H₂ producers in the groups without and with laxatives, both before and after supplementation.

The results of this study may suggest that the effects of GBB had a role in stimulating the growth of a fermenting and H₂-producing microbiota and subsequent production of AGCC by the microbiota in the colon after exposure to DF and RS present in GBB, with consequent improvement of chronic constipation of children evaluated, without having influence by the use of the laxative.

It was demonstrated in this study that the consumption of 30 g / day of GBB for 08 weeks reduced the proportion of children with classifications 01 or 02 of the Bristol Fecal Scale, effort and painful evacuation. The use of the Bristol Fecal Scale as a primary endpoint is another strong point of the study, as the scale is recommended for use in children with constipation before and after the publication of The Rome IV Criteria^{49,50,51}. Therefore, classifying fecal pattern evolution according to faecal consistency is useful in evaluating the efficacy of intervention in FC.

Conclusion

In conclusion, the results of the study showed that supplementation of GBB to the routine treatment of FC in children caused a more significant colonic fermentation measured through the with lactulose, without differences between the groups without and with the use of associated laxative. The adverse effects assessed during the study were minimal in both groups, showing that HBT with the use of lactulose was well tolerated by the study group. There were significant changes in signs and symptoms associated with FC, such as improvement in evacuation frequency and Bristol Scale, reduction of pain to evacuate, abdominal pain and blood in the stool. However, there are still gaps in the literature regarding many foods with effects on the gastrointestinal tract, such as fruits. Thus, more studies are needed to elucidate the role of fruit fermentation and sources of RS and intestinal microbiota in the positive results of GBB in the treatment of FC.

References

1. Tabbers MM, DiLorenzo C, Berger MY, Faure C, Langendam MW, Nurko S, Staiano A, Vandenplas Y, Benninga MA. Evaluation and treatment of functional constipation in infants and children: evidence-based recommendations from ESPGHAN and NASPGHAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 258-74.
2. 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.
3. Morais MB, Maffei HVL. Constipation. *J Pediatr*. (Rio J.). 2000; 76 (Supl.2): S147-S156
4. Faleiros FT, Machado NC. Assessment of health-related quality of life in children with functional defecation disorders. *J Pediatr* (Rio J) 2006; 82:421–425.
5. Youssef NN, Langseder AL, Verga BJ, et al. Chronic childhood constipation is associated with impaired quality of life: a case-controlled study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41:56-60.
6. Clarke MCC, Chow CS, Chase JW, et al. Quality of life in children with slow transit constipation. *J Pediatr Surg* 2008; 43:320-4.
7. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Evaluation and treatment of constipation in children: summary of updated recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006; 43:405-407.
8. Hatch TF. Encopresis and constipation in children. *Pediatr Clin North Am*. 1988; 35:257–280
9. McClung HJ, Boyne L, Heitlinger L. Constipation and dietary fiber intake in children. *Pediatrics*. 1995; 96:999–1001.

10. Morais MB, Vitolo MR, Aguirre AN, Fagundes-Neto U. Measurement of low dietary fiber intake as a risk factor for chronic constipation in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 29:132–135.
11. Williams CL, Bollella MC, Strobino BA, Boccia L, Campanaro L. Plant stanol ester and bran fiber in childhood: effects on lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. *J Am Coll Nutr.* 1999; 18:572–581.
12. Cassettari VMG, Machado NC, Lourenção PLTA, Carvalho MA, Ortolan EVP. Combinations of laxatives and green banana biomass on the treatment of functional constipation in children and adolescents: a randomized study. *J Pediatr (Rio J).* 2018 Jan 5.
13. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr.* 1992; 46:33-50.
14. Langkilde AM, Champ M, Andersson H. Effects of high-resistant-starch banana flour (RS (2)) on in vitro fermentation and the small-bowel excretion of energy, nutrients, and sterols: an ileostomy study. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:104-11.
15. Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Álvarez J.A. Resistant starch as a functional ingredient, a review. *Food Res Int.* 2010; 43: 931-42.
16. Levitt MD. Production and excretion of hydrogen gas in man. *New Eng J Med* 1969; 281: 122–7.
17. Levitt MD, Donaldson RM. Use of respiratory hydrogen (H₂) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J Lab Clin Med* 1970; 75: 937–45.
18. Sahota SS, Bramley PM & Menzies IS. The fermentation of lactulose by colonic bacteria. *Journal of General Microbiology* 1982; 128, 319–25.
19. Hyams JS, Di Lorenzo C, Saps M, Shulman RJ, Staiano A, van Tilburg M. Functional Disorders: Children and Adolescents. *Gastroenterology* 2016; 150:1456-68.

20. Lewis SJ, Heaton KW. Stool Form Scale as a Useful Guide to Intestinal Transit Time. *Scand J Gastroenterol*. 1997; 32:920-4.
21. Martinez AP, Azevedo GR. The Bristol Stool Form Scale: its translation to Portuguese, cultural adaptation and validation. *Rev Latino-Am Enfermagem*. 2012; 20:583-9.
22. Goñi I, García-Diz L, Mañas E, Saura-Calixto F. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry*. 1996 56:445-9.
23. Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G et al. Methodology and indications of H₂-breath testing in gastrointestinal diseases: The Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29 (Suppl 1): 1-49.
24. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, Schmulson M, Valdovinos M, Zakko S, Pimentel M and on behalf of The North American Consensus group on hydrogen and methane-based breath testing. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol* 2017; 112:775–784
25. Karcher RE, Truding RM, Stawick LE. Using a cutoff of <10 ppm for breath hydrogen testing: a review of 5 years' experience. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29:1-8.
26. Bate JP, Irving PM, Barrett JS, Gibson PR. Benefits of breath hydrogen testing after lactulose administration in analyzing carbohydrate malabsorption. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2010, 22:318–326
27. Eisenmann A, Amann A, Said M, Datta B, Ledochowski M. Implementation and interpretation of hydrogen breath tests. *J Breath Res* 2008; 2: 046002.
28. Pimentel M, Mayer AG, Park S, Chow EJ, Hasan A, Kong Y. Methane production during lactulose breath test is associated with gastrointestinal disease presentation. *Dig Dis Sci* 2003; 48:86–92.
29. Chatterjee S, Park S, Low K, Kong Y, Pimentel M. The degree of breath methane production in IBS correlates with the severity of constipation.

Am J Gastroenterol 2007; 102:837–841.

30. Flourie B, Etanchaud F, Florent C, Pellier P, Bouhnik Y, Rambaud JC. Comparative study of hydrogen and methane production in the human colon using caecal and faecal homogenates. *Gut* 1990; 31:684–685.
31. Brownawell, A M, Lewis, K D, Caers W, Gibson G R, Kendall C W C, Lewis K D, et al. Prebiotics and the health benefits of fiber: current regulatory status, future research, and goals. *Journal of Nutrition*, 2012 ,142:962–74.
32. Howlett JF, Betteridge VA, Champ M, Craig SA, Meheust A, Jones JM. The definition of dietary fiber—discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: building scientific agreement. *Food Nutr Res*. 2010; 54:5750.
33. Englyst, H N, Kingman, S M, & Cummings, JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1992. 46(2), 33-50.
34. Lehmann U, Jacobasch G & Scmiedl D. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agriculture Food and Chemistry* 2002; 50: 5236–40.
35. Nugent A P. Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 2005, 30: 27-54.
36. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. Resistant starch: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2005, 5: 1-17.
37. Vatanasuchart N, Niyomwit B, Wongkrajang K. Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo Int J Sci Technol*. 2012; 6:259-71.
38. Gibson GR & Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125(6):1401-12.
39. Gibson, GR., Probert, HM., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 2004. 17, 259–75.

40. Roberfroid M, Gibson G R, Hoyles L, McCartney A L, Rastall R, Rowland I, et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 2010, 104(2) S1–S63.
41. Calame W, Weseler AR, Viebke C, Flynn C, Siemensma AD. Gum arabic establishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner. *Br J Nutr*. 2008, 100: 1269-1275.
42. Saulnier DM, Kolida S, Gibson GR. Microbiology of the human intestinal tract and approaches for its dietary modulation. *Current Pharmaceutical Design*, 2009; 15:1403–14.
43. Macfarlane GT & Macfarlane S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2011, 45 (S120–S127).
44. Aurore G, Parfait B, Fahrasmane L. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends Food Sci Technol*, 2009, 20:78-91.
45. Faisant N, Buleon A, Colonna P, et al. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. *Brit J Nutr*. 1995a; 73:111–23.
46. Faisant N, Gallant DJ, Bouchet B, et al. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *Eur J Clin Nutr*. 1995b; 49:98-104
47. Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Alvarez JA. Resistant starch as functional ingredient: a review. *Food Res Int*. 2010; 43:931–42
48. Mitsou EK, Kougia E, Nomikos T, Yannakoulia M, Mountzouris KC, Kyriacou A. Effect of banana consumption on faecal microbiota: a randomized, controlled trial. *Anaerobe* 2011, 17:384–387.

49. Bardisa-Ezcurra L, Ullman R, Gordon J, on behalf of the Guideline Development Group. Diagnosis and management of idiopathic childhood constipation: summary of NICE guidance. *BMJ*. 2010; 340:2585
50. Koh H, Lee MJ, Kim MJ, Shin JI, Chung KS. Simple diagnostic approach to childhood fecal retention using the Leech score and Bristol stool form scale in medical practice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2010; 25: 334-8.
51. Russo M, Martinelli M, Sciorio E, Botta C, Miele E, Vallone G, Staiano A. Stool consistency, but not frequency, correlates with total gastrointestinal transit time in children. *J Pediatr*. 2013; 162:1188-92.