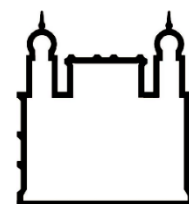




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

TESE DE DOUTORADO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO FECAL DE *Bifidobacterium* spp.,
PARÂMETROS GEOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, LABORATORIAIS E
DIETÉTICOS DE ESTUDANTES SUBMETIDOS A UMA INTERVENÇÃO NA
ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO SERTÃO DA BAHIA**

CAMILLA ALMEIDA MENEZES

Salvador - Bahia

2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

**ASSOCIAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO FECAL DE *Bifidobacterium* spp.,
PARÂMETROS GEOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, LABORATORIAIS E
DIETÉTICOS DE ESTUDANTES SUBMETIDOS A UMA INTERVENÇÃO NA
ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO SERTÃO DA BAHIA**

CAMILLA ALMEIDA MENEZES

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Patologia Humana para obtenção do grau de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira
Coorientadora: Profa. Dra. Nelzair Araújo Vianna

Salvador – Bahia

2022

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz/ FIOCRUZ – Bahia - Salvador

M543a Menezes, Camilla Almeida

Associação entre concentração fecal de *Bifidobacterium* spp., parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos de estudantes submetidos a uma intervenção na alimentação escolar no sertão da Bahia. / Camilla Almeida Menezes. _ Salvador, 2022.

140 f.: il.: 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira
Coorientadora: Profa. Dra. Nelzair AraújoVianna

Tese (Doutorado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2022.

1. Estado nutricional. 2. Obesidade infantil. 3. Alimentação escolar. 4. Microbiota intestinal. 5. *Bifidobacterium* spp. I. Título.

CDU 612.3

"ASSOCIAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO FECAL DE Bifidobacterium spp., PARÂMETROS GEOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, LABORATORIAIS E DIETÉTICOS DE ESTUDANTES SUBMETIDOS A UMA INTERVENÇÃO NA ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO SERTÃO DA BAHIA".

Camilla Almeida Menezes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 09 de dezembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA



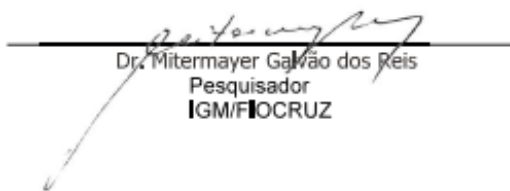
Dra. Rosângela Passos de Jesus
Professora
UFBA



Dr. Jailton de Azevedo Silva Junior
Professor
UFBA



Dra. Maria da Conceição Chagas de Almeida
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ



Dr. Mitermayer Galvão dos Reis
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ



Dr. Ricardo Riccio Oliveira
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Taxa de Bancada do Laboratório de Epidemiologia Molecular e Estatística (LEMB) e do Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (IGM-Fiocruz).

AGRADECIMENTOS

À Fiocruz Bahia, em especial ao Dr. Ricardo Riccio Oliveira, à Dra. Nelzair Araújo Vianna e à Dra. Dalila Zanetti por terem me recebido, acolhido e direcionado na realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia pelo apoio por meio da concessão de bolsa de pesquisa.

Aos coordenadores da pesquisa, Dra. Ana Marice Teixeira Ladeia, da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, e Dr. Ricardo Riccio Oliveira, da Fiocruz Bahia, pela iniciativa e coragem de realizarem pesquisa mesmo diante de cenários tão desafiadores.

Ao Ministério Público da Bahia pelo apoio logístico à realização das atividades de campo, assim como às nutricionistas responsáveis técnicas pela alimentação escolar nos municípios onde este estudo foi realizado, pelo apoio na coleta dos dados.

Ao grupo carinhosamente apelidado de PESquisa, que abrigou todos os que trabalharam na execução e avaliação do Programa Escola Sustentável, em especial aos amigos Renata, Alexvon, Bruno, Bruna, Alana, Jacqueline, Ximena, Paulo Victor e Patrícia Rafaela.

Às estudantes de iniciação científica, Letícia e Lise, que foram essenciais para a análise dos dados e para tornar a caminhada mais divertida.

À família LAPEX (Laboratório de Patologia Experimental), onde encontrei colegas, fiz amigos, ganhei irmãos e firmei laços que espero ser eternos. Ronald, Maria, Thainá, Marcos, Bruna, Eric (em memória), a Nutri que só conhecia laboratórios de técnica dietética agora faz PCR graças a vocês.

À minha família soterocarioca, principalmente à minha mãe (Graça), ao meu companheiro (Leo) e aos meus filhotes felinos (Tofu e Caju), pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência e estresse, tão comuns da vida pós-graduanda.

Por fim, e não menos importante, agradeço aos 190 estudantes que compuseram a amostra deste estudo, e seus familiares e responsáveis legais, por permitirem a realização deste trabalho, que foi feito por e para vocês.

Hora da merenda. “*Eba! Hoje é goiaba!*”
Eu fico com a pureza da resposta das
crianças... E que elas saibam que pode ser
mais que isso.

MENEZES, Camilla Almeida. **Associação entre concentração fecal de *Bifidobacterium* spp., parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos de estudantes submetidos a uma intervenção na alimentação escolar no sertão da Bahia.** 140 f. il. (Doutorado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2022.

RESUMO

Contexto: Hábitos alimentares não saudáveis estão relacionados ao desenvolvimento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), também na população infantil. Um dos mecanismos associados é o desequilíbrio da microbiota intestinal. Com a prerrogativa de promoção de sustentabilidade social, econômica e ambiental, e de melhora das condições nutricionais e de saúde, uma intervenção que alcançou cerca de 32 mil estudantes do estado da Bahia fomentou a redução da oferta de alimentos de origem animal e ultraprocessados na alimentação escolar. O objetivo deste estudo de intervenção foi avaliar o estado nutricional desses estudantes e a sua associação com as concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp. (BIF). **Métodos:** 190 indivíduos, de 5 a 19 anos, foram avaliados no início do ano letivo de 2019 e 124 deles, expostos à intervenção, foram novamente avaliados no final desse período. A avaliação do consumo alimentar foi feita por meio de Recordatório de 24 horas. Os parâmetros laboratoriais incluíram hemograma, perfil glicídico e lipídico, ferritina e vitaminas D e B12. A avaliação da abundância fecal de BIF foi feita pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. Os indicadores antropométricos incluíram Índice de Massa Corporal, Circunferência da Cintura e Relação Cintura-Estatura. **Resultados:** Observou-se alta ingestão de alimentos ultraprocessados e alta prevalência de LDL-colesterol elevado, hipertrigliceridemia, excesso de peso e risco cardiovascular, achados mais expressivos na população de escolas da zona urbana. A menor abundância fecal de BIF foi associada à maior prevalência de hiperglicemia, e a maior concentração foi associada à menor prevalência de risco cardiovascular. A exposição à intervenção resultou em redução dos níveis séricos de LDL-colesterol e do risco cardiovascular, e aumento dos níveis séricos de triglicérides. **Conclusão:** A concentração fecal de BIF está associada com alterações metabólicas na população estudada e políticas públicas locais podem ser eficazes no enfrentamento às DCNT entre crianças e adolescentes da rede pública municipal de ensino. Sugere-se investigação da influência da prática de atividade física nesses desfechos.

Palavras-chave: Estado nutricional. Obesidade infantil. Alimentação escolar. Microbiota intestinal. *Bifidobacterium* spp.

MENEZES, Camilla Almeida. **Association between fecal concentration of *Bifidobacterium* spp., and geographic, anthropometric, laboratory and dietary parameters of students submitted to an intervention in school feeding in Bahia.** 140 f. il. (Doutorado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2022.

ABSTRACT

Context: Unhealthy eating habits are related to the development of Chronic Noncommunicable Diseases (NCDs), also among children. One of the associated mechanisms is the imbalance of the intestinal microbiota. With the prerogative of promoting social, economic, and environmental sustainability, besides improving nutritional and health conditions, an intervention that reached about 32,000 students in the state of Bahia, Brazil, promoted a reduction in the supply of animal protein and ultra-processed foods in school meals. This intervention study aimed to assess the nutritional status of these schoolchildren, and its association with the fecal concentrations of *Bifidobacterium* spp. (BIF). **Methods:** 190 subjects, aged 5 to 19y, were evaluated at the beginning of the 2019 and 124 of them, exposed to the intervention, were evaluated again at the end of this period. The assessment of food consumption was performed using a 24-hour recall. Laboratory parameters included blood count, glucose and lipid profiles, ferritin, and vitamins D and B12. The fecal abundance of BIF assessment was performed by the Real-Time Polymerase Chain Reaction method. Anthropometric indicators included Body Mass Index, Waist Circumference, and Waist-to-Height Ratio. **Results:** A high intake of ultra-processed foods and a high prevalence of hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, overweight and cardiovascular risk were observed, the most expressive findings in the population of urban schools. The lower fecal abundance of BIF was associated with a higher prevalence of hyperglycemia, and a higher concentration was associated with a lower prevalence of cardiovascular risk. Exposure to the intervention resulted in reduced serum LDL-cholesterol levels and cardiovascular risk, and increased serum triglyceride levels. **Conclusion:** The fecal concentration of BIF is associated with metabolic changes in the studied population and local public policies can be effective in fighting NCDs among children and adolescents in the municipal public school system. It is suggested to investigate the influence of physical activity on these outcomes.

Keywords: Nutritional status. Child obesity. School meals. Gut microbiota. *Bifidobacterium* spp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma de seleção da amostra do estudo.

37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Características sociodemográficas dos municípios que compuseram a amostra do estudo nos anos de 2019 e 2020	35
-----------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
BIF	<i>Bifidobacterium</i> spp.
CC	Circunferência da cintura
Ct	<i>Threshold cycle</i> – Ciclo de Limiar
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
EBMSP	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
ENANI	Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil
ERICA	Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes
GEE	Gases do efeito estufa
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGM	Instituto Gonçalo Moniz
IMC	Índice de Massa Corporal
IMC/I	Índice de Massa Corporal para Idade
LAPEX	Laboratório de Patologia Experimental
MPBA	Ministério Público da Bahia
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
PeNSE	Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar
PES	Programa Escola Sustentável
PNAE	Programa Nacional de Alimentação Escolar
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
RCE	Relação Cintura Estatura
REU	<i>Relative Expression Units</i> - Unidades de Expressão Relativa
SAN	Segurança Alimentar e Nutricional
SUS	Sistema Único de Saúde
TB	<i>Total Bacteria</i> – Bactérias Totais
VIGITEL	Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 CONDIÇÃO DE SAÚDE DA POPULAÇÃO EM IDADE ESCOLAR NO BRASIL....	16
2.2 ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO BRASIL	21
2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E SAÚDE HUMANA.....	25
3 JUSTIFICATIVA	32
3.1 HIPÓTESE	33
4 OBJETIVOS	34
4.1 OBJETIVO GERAL.....	34
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
5 MATERIAIS E MÉTODOS	35
5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	35
5.2 INTERVENÇÃO A SER AVALIADA	35
5.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO	36
5.4 COLETA DOS DADOS	38
5.4.1 Avaliação clínica.....	39
5.4.2 Avaliação do consumo alimentar	39
5.4.3 Avaliação dos cardápios escolares	39
5.4.4 Avaliação laboratorial	40
5.4.5 Avaliação antropométrica	42
5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	43
5.6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	43
6 RESULTADOS	45
6.1 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 1	45
6.2 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 2	60
6.3 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 3	77
6.4 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 4	98
7 DISCUSSÃO	109
8 CONCLUSÕES	120
APÊNDICES	128

1 INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal humana vem sendo alvo de considerável interesse científico nos últimos anos, especialmente após o desenvolvimento dos estudos metagenômicos. A microbiota digestiva varia ao longo do trato gastrointestinal, estando no intestino grosso a maior concentração, onde destacam-se os gêneros *Bacteroides* spp., compreendendo aproximadamente 30% das bactérias do intestino, seguidos de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp., o que sugere que sejam particularmente significativos no funcionamento do organismo hospedeiro (GOMAA, 2020). Diversos fatores podem alterar a composição e a função da microbiota intestinal, estando o padrão dietético entre os que mais contribuem (RONAN; YEASIN; CLAUD, 2021).

A disbiose intestinal é caracterizada pelo desequilíbrio da microbiota e pode promover efeitos nocivos ao hospedeiro por meio de mudanças qualitativas e quantitativas da sua composição, mudanças no metabolismo da população bacteriana e alterações na distribuição das bactérias ao longo do trato gastrointestinal. Essas alterações estão relacionadas com o desenvolvimento de diversos distúrbios, como síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias intestinais, hepáticas, cardiovasculares e autoimunes, obesidade, diabetes e alergias (ZHANG et al., 2015). Apesar de serem reconhecidos pela literatura efeitos probióticos relacionados ao gênero *Bifidobacterium* spp., os estudos que visam avaliar a sua relação com desfechos metabólicos, como obesidade e doenças cardiovasculares, apresentam resultados conflitantes, em especial na população infantil.

O Brasil segue a tendência mundial de redução da prevalência de magreza e aumento de sobrepeso e obesidade na população em idade escolar, atualmente reconhecidos como problemas de saúde pública (DOS SANTOS FARIAS et al., 2020). Por sua vez, a obesidade está associada ao desenvolvimento de dislipidemias, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, alterações respiratórias, artropatia degenerativa e hipertensão arterial sistêmica, além de aumento do risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer (FERREIRA et al., 2020). As Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) podem se desenvolver em decorrência de múltiplas causas, sendo tabagismo, sedentarismo, uso nocivo de álcool e alimentação não saudável os principais fatores de risco modificáveis. Embora as manifestações clínicas sejam observadas com maior frequência na idade adulta, a exposição aos fatores de

risco vem ocorrendo de forma cada vez mais precoce, em especial aqueles relacionados à alimentação (DOS SANTOS et al., 2021).

A avaliação do consumo alimentar da população brasileira revela uma tendência crescente de substituição de alimentos básicos como arroz, feijão, frutas, verduras, carne bovina e leite, por bebidas e alimentos industrializados, como biscoitos, carnes processadas, comidas prontas para consumo, açúcar e sal. A análise por faixa etária permite observar que o consumo de frutas, verduras e legumes foi menor entre adolescentes em comparação com adultos e idosos. Por outro lado, o consumo de alimentos ultraprocessados foi maior entre os mais jovens (IBGE, 2020).

A literatura vem evidenciando que o aumento do consumo de alimentos ultraprocessados está associado ao risco de síndrome metabólica em adolescentes e dislipidemia em crianças (LANE et al., 2020). Apesar disso, os ultraprocessados estão cada vez mais presentes nos hábitos alimentares da população, em especial a infantil. Alguns dos fatores que podem explicar esse fenômeno são o fato de serem alimentos prontos para consumo ou que exigem pouca preparação culinária, de fácil acesso, com grande apelo publicitário e de baixo custo, quando comparados aos alimentos básicos (PASSOS et al., 2020). Esse cenário demonstra a necessidade urgente de políticas públicas de enfrentamento, seja na adoção de legislações mais rigorosas no que diz respeito à rotulagem de alimentos, na redução dos incentivos fiscais à indústria de ultraprocessados e, principalmente, na promoção de Segurança Alimentar e Nutricional para a população.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), como parte de sua campanha para controle da obesidade infantil, recomenda, entre outras estratégias, a participação da escola na promoção de hábitos alimentares saudáveis (WHO, 2017). No Brasil, o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) representa a maior e mais antiga política de Segurança Alimentar e Nutricional do país, alcançando mais de 46 milhões de estudantes. O PNAE tem entre os objetivos a formação de hábitos alimentares saudáveis por meio da oferta de refeições baseadas em gêneros alimentícios básicos, que devem respeitar os hábitos alimentares, a cultura e a tradição local, e pautar-se na sustentabilidade, diversificação agrícola da região e na alimentação saudável e adequada (PEIXINHO, 2013).

Para a OMS, alimentação sustentável é aquela que deve ter baixo impacto ambiental, contribuindo para padrões elevados de segurança alimentar e de saúde das gerações futuras. Ainda, deve ser saudável não só para os consumidores, mas também para o meio ambiente, devendo proteger e respeitar a biodiversidade e os ecossistemas, ser culturalmente aceitável,

facilmente acessível, economicamente justa, nutricionalmente adequada e segura (FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2010). Nesse sentido, o Ministério Público da Bahia (MPBA) propôs a criação do Programa Escola Sustentável (PES), que tem entre os objetivos a melhoria da qualidade e quantidade da alimentação escolar, usando com estratégia a redução da oferta de alimentos de origem animal (MPBA. MINISTÉRIO PÚBLICO DA BAHIA, 2018), uma vez que estão relacionados ao maior impacto ambiental (WILLETT et al., 2019). O Programa foi implementado em 2018, alcançando aproximadamente 32 mil estudantes do sertão do estado e tornou-se objeto de pesquisa do presente estudo.

A possibilidade de investigar as condições de saúde da população em idade escolar no âmbito local e contribuir para nortear a implementação e o realinhamento de políticas públicas de Segurança Alimentar e Nutricional motivam e justificam a realização do presente estudo de intervenção, que visa avaliar a associação entre as concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp. e parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos de um grupo de estudantes da rede municipal de ensino do sertão da Bahia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONDIÇÃO DE SAÚDE DA POPULAÇÃO EM IDADE ESCOLAR NO BRASIL

A transição epidemiológica da população brasileira é caracterizada por redução da mortalidade infantil e aumento da expectativa média de vida ao nascimento. Igualmente, observa-se redução da mortalidade por desnutrição energético-proteica e por doenças infecciosas, e aumento da incidência de DCNT, inclusive na população infantil (IBGE, 2020). Um estudo envolvendo aproximadamente 130 milhões de pessoas de 200 países demonstrou que, de 1975 a 2016, a prevalência de desnutrição energético-proteica em crianças menores de 5 anos diminuiu, mas a de obesidade aumentou, em especial em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos (BENTHAM et al., 2017). De acordo com a *United Nations Children's Fund*, no mundo, uma a cada três crianças menores de cinco anos apresenta nanismo, baixo peso ou sobrepeso e mais de 50% apresentam de deficiências de micronutrientes, cujas consequências incluem déficits de crescimento e desenvolvimento, imunossupressão, cegueira e aumento do risco de morte (UNICEF, 2020).

A prevalência de magreza vem reduzindo na população brasileira ao passo que a prevalência de sobrepeso e obesidade vem aumentando, inclusive na população em idade escolar, atualmente reconhecidos como problemas de saúde pública (DOS SANTOS FARIAS et al., 2020). De acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF (2008-2009), entre 1974 e 2009, a prevalência de déficit de altura e peso em crianças de 5 a 9 anos reduziu de 29,3% para 7,2% e de 5,7% para 4,3%, respectivamente. No entanto, houve aumento da prevalência de excesso de peso, de 10,9% para 34,8% em meninos, e de 8,6% para 32,0% em meninas. A prevalência de obesidade nos dois sexos repete essa tendência. Entre os adolescentes, a prevalência de déficit de peso também mostrou declínio em ambos os sexos, no entanto, a prevalência de excesso de peso aumentou em seis vezes entre os meninos e em quase três vezes entre as meninas (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). A versão mais atual da pesquisa (2017-2018), agora intitulada Pesquisa Nacional de Saúde, revelou que 19,4% dos indivíduos entre 15 e 17 anos têm sobrepeso e 6,7% apresentam obesidade (IBGE 2020). Ainda, dados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar – PeNSE 2015 (IBGE, 2016) e do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico - VIGITEL (BRASIL, 2018) revelaram que o

excesso de peso aumentou em 239% no país nos últimos 20 anos, sendo 15% dos brasileiros entre 6 e 18 anos diagnosticados com sobrepeso e 5% com obesidade.

O estudo multicêntrico nacional ERICA (Estudo dos Riscos Cardiovasculares em Adolescentes), que avaliou cerca de 75.000 indivíduos em 121 municípios, apontou uma situação ainda mais preocupante, a crescente prevalência também de comorbidades como hipercolesterolemia (20,1%), hipertensão arterial sistêmica (9,6%) e síndrome metabólica (2,6%) entre os brasileiros de 12 a 17 anos, muito embora deficiências nutricionais ainda sejam consideradas problemas de saúde pública nessa população (VERGETTI BLOCH et al., 2016). Esse efeito vem sendo reconhecido como *Double Burden of Malnutrition*, ou “dupla carga de desnutrição”, que é a coexistência de deficiências nutricionais (micronutrientes e atraso no crescimento) e excesso de peso, ambos fatores de risco para problemas de saúde ao longo da vida (FERREIRA et al., 2020).

Crianças diagnosticadas com obesidade apresentam maior risco de se manterem com essa condição na adolescência e na vida adulta. Por sua vez, a obesidade está associada ao desenvolvimento de DCNT (FERREIRA et al., 2020), que pode se desenvolver em decorrência de múltiplos fatores, sendo tabagismo, sedentarismo, uso nocivo de álcool e alimentação não saudável alguns dos principais fatores de risco modificáveis. Embora as manifestações clínicas sejam observadas com maior frequência na idade adulta, a exposição aos fatores de risco vem ocorrendo de forma cada vez mais precoce, em especial aqueles relacionados à alimentação (DOS SANTOS et al., 2021).

A vida no Brasil transformou-se em muitos aspectos nas últimas gerações. As famílias tornaram-se menores, devido à queda significativa da fecundidade, houve redução da mortalidade infantil e aumento da prevalência de crianças e adolescentes frequentando o ensino fundamental. O país também se tornou, de forma rápida, predominantemente urbano, o que acarretou mudanças importantes nos padrões alimentares tradicionais, gerando a denominada transição alimentar. O crescimento econômico, as modificações ambientais, as novas tecnologias de produção de alimentos, a mídia e a crescente participação da mulher no mercado de trabalho são alguns dos fatores que influenciaram e continuam influenciando essa transição (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

A POF, já citada anteriormente, é realizada periodicamente pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e, atualmente, encontra-se na sexta edição. Um dos objetivos da POF é mensurar as estruturas de consumo, dos gastos, dos rendimentos e parte da variação patrimonial das famílias, possibilitando traçar um perfil das condições de vida da população a

partir da análise de seus orçamentos domésticos. Um desses dados é a disponibilidade domiciliar de alimentos, que permite análises de tendências e comparações internacionais, possibilitando as estimativas de consumo, bem como a identificação de padrões e mudanças temporais na alimentação da população brasileira (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2020).

Comparando-se os dados de consumo alimentar entre as pesquisas de 2002-2003 e 2008-2009, é possível observar uma tendência crescente de substituição de alimentos básicos como arroz, feijão e hortaliças, por bebidas e alimentos industrializados, como refrigerantes, biscoitos, carnes processadas, comidas prontas para consumo, açúcar e sal (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). Considerando a evolução do consumo de alimentos entre as pesquisas de 2008-2009 e de 2017-2018 observa-se redução ainda maior no consumo de feijão, frutas, leite e derivados, e carne bovina, mas também de refrescos e refrigerantes. A análise por faixa etária permite observar que o consumo de frutas, verduras e legumes foi menor entre adolescentes em comparação com adultos e idosos. Por outro lado, o consumo de macarrão instantâneo, biscoito recheado, biscoito doce, salgadinhos de pacote, linguiça, salsicha, mortadela, presunto, chocolates, achocolatados, sorvete/picolé, sucos, refrescos/sucos industrializados, refrigerantes, bebidas lácteas, pizzas, salgados fritos e assados e sanduíches foi mais elevado entre os adolescentes do que nos demais grupos (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2020). Essa tendência demonstra que, assim como em outros países, a alimentação da população brasileira, em especial da mais jovem, vem se tornando cada vez mais processada e industrializada.

O processamento de alimentos inclui todos os processos necessários para transformar alimentos crus em novos produtos, garantindo sua segurança, palatabilidade e prazo de validade. No entanto, nas últimas décadas, o processamento de alimentos vem se modificando para atender a uma demanda cada vez maior por alimentos com maior vida útil e melhor palatabilidade, o que gerou a necessidade de adição de outros ingredientes, naturais ou artificiais, aos alimentos processados. Sendo esses alimentos, em sua maioria, ricos em açúcar, gordura, sal, nutrientes isolados e aditivos químicos, como corantes, edulcorantes, flavorizantes e conservantes, é crescente o interesse em elucidar se o consumo deles impacta a qualidade da dieta e, por sua vez, a saúde humana (MARINO et al., 2021). Para isso, o primeiro desafio está relacionado à forma de classificação desses alimentos.

No Brasil, um grupo de pesquisadores do Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde (NUPENS), da Universidade de São Paulo, propôs a classificação NOVA,

que diferencia os alimentos em quatro categorias principais, com base em seu grau de processamento. O grupo 1 é composto por alimentos não processados e minimamente processados, como frutas, verduras, legumes, cereais, leguminosas, leite, ovos e carnes. Nesse grupo os alimentos são consumidos crus ou necessitam de processamento simples, como o cozimento e pasteurização. O grupo 2 inclui os ingredientes culinários processados, como óleos, manteiga, banha, açúcar e sal. No grupo 3 estão os alimentos processados, como carnes salgadas; geleias de frutas; peixes, grãos e legumes enlatados. Normalmente, são produzidos pela adição de substâncias do grupo 2 aos alimentos do grupo 1 e com uso de métodos de preservação como enlatamento e engarrafamento. O grupo 4 compreende os alimentos ultraprocessados, que são formulações de ingredientes, em sua maioria para uso industrial exclusivo, produzidos por meio de uma série de processos industriais que incluem o fracionamento de alimentos inteiros em substâncias isoladas e o uso frequente de aditivos, no intuito de aumentar ou reduzir o teor de determinado nutriente e melhorar as características sensoriais do produto. Fazem parte desse grupo refrigerantes, biscoitos recheados, sorvetes, margarinas, pães de forma e muitos outros (MONTEIRO; CANNON; LEVY, 2016). Essa classificação foi reconhecida e adotada pelo Ministério da Saúde brasileiro e vem sendo replicada em diversos países do mundo. Da mesma forma, as pesquisas que avaliam consumo alimentar de populações, atualmente, consideram a classificação NOVA como parâmetro qualitativo.

A POF 2017-2018 revelou que, na população brasileira maior que 10 anos, pouco mais da metade (53,4%) das calorias consumidas foi proveniente de alimentos *in natura* ou minimamente processados, destacando-se por sua maior contribuição o arroz, o feijão, as carnes, frutas, leite, macarrão, verduras e legumes, e raízes e tubérculos. Somados aos ingredientes culinários processados (15,6%), comumente utilizados em preparações, esses dois grupos alcançaram quase 70% do total calórico consumido. A participação dos alimentos processados foi de 11,3% do total de calorias e a dos ultraprocessados foi de 19,7%. Considerando o consumo por faixa etária, observou-se que a participação dos alimentos do grupo 1, assim como dos grupos 2 e 3, foi menor entre adolescentes. Por outro lado, os alimentos ultraprocessados representaram 26,7% do total de calorias consumidas por essa população (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA., 2020).

O Guia Alimentar para a População Brasileira, atualizado em 2014 pelo Ministério da Saúde, orienta os Dez Passos para uma Alimentação Adequada e Saudável. O primeiro deles recomenda o consumo de alimentos *in natura* e minimamente processados como base da

alimentação. O segundo passo lembra a importância de consumir com moderação os ingredientes culinários processados. O passo 3 sugere limitar o consumo de alimentos processados e o 4 informa que é necessário evitar os ultraprocessados (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Essa recomendação se baseia no fato de que evidências científicas vêm demonstrando que o consumo de ultraprocessados está associado ao desenvolvimento de DCNT, como obesidade, dislipidemia e síndrome metabólica, e pode contribuir para inadequação do consumo de micronutrientes entre crianças e adolescentes, prejudicando, assim, o seu crescimento e desenvolvimento (ANDRETTA et al., 2021).

Um estudo de revisão sistemática e meta-análise de estudos observacionais evidenciou que o aumento do consumo de alimentos ultraprocessados está associado a maior risco cardiometabólico, maior risco de doenças cardiovasculares e à mortalidade por todas as causas (PAGLIAI et al., 2021). Outra meta-análise, que analisou 43 estudos observacionais, totalizando mais de 890 mil indivíduos, demonstrou que o consumo desses ultraprocessados foi associado ao maior risco de sobrepeso, obesidade, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, síndrome do intestino irritável, câncer, depressão e mortalidade por todas as causas em adultos, à síndrome metabólica em adolescentes e à dislipidemia em crianças (LANE et al., 2020). Apesar disso, evidências científicas vêm demonstrando que o consumo de ultraprocessados está crescendo significativamente na população, em especial a infantil (PASSOS et al., 2020).

Esse cenário demonstra a necessidade urgente de políticas públicas de enfrentamento, seja na adoção de legislações mais rigorosas no que diz respeito à rotulagem de alimentos, na redução dos incentivos fiscais à indústria de ultraprocessados e, principalmente, na promoção de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) para a população. De acordo com o I Inquérito Nacional sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da COVID-19 no Brasil (VIGISAN), 55% da população vivia, em 2020, com algum nível de insegurança alimentar e 19 milhões de pessoas passavam fome. O II VIGISAN, publicado este ano, revelou piora desse cenário. Seis em cada 10 brasileiros (58,7% da população) estiveram, em 2021, em algum nível de insegurança alimentar e 33 milhões de pessoas vivenciaram situação de fome, realidade ainda mais expressiva entre mulheres, pessoas autodeclaradas pretas e pardas, das regiões Norte e Nordeste, e procedentes da zona rural (PENSSAN, 2022). Uma estratégia promissora para o enfrentamento a essa situação é o fortalecimento das políticas e equipamentos públicos de promoção de SAN, como o Programa Nacional de Alimentação Escolar.

2.2 ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO BRASIL

A OMS, como parte de sua campanha para controle da obesidade infantil, recomenda, entre outras estratégias, a participação da escola na promoção de hábitos alimentares saudáveis (WHO, 2017). No Brasil, a política pública de segurança alimentar e nutricional mais antiga é o PNAE, que em 2021 completou 66 anos. O PNAE também é um dos maiores, mais abrangentes e mais duradouros programas de alimentação escolar do mundo, alcançando toda a rede de educação básica (educação infantil, ensino fundamental e ensino médio) e de educação de jovens e adultos, o que significa fornecer alimentação para mais de 46 milhões de estudantes matriculados em escolas públicas, filantrópicas e entidades comunitárias em todo o país (PEIXINHO, 2013).

O PNAE tem como objetivo principal contribuir para o crescimento e desenvolvimento biopsicossocial, aprendizagem, rendimento escolar e formação de hábitos alimentares saudáveis, por meio de ações de educação alimentar e nutricional, e oferta de refeições que atendam às necessidades nutricionais dos estudantes durante o período letivo. Para isso, o Programa é fomentado e gerenciado pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), órgão vinculado ao Ministério da Educação (MEC) e responsável por transferir recursos financeiros federais aos estados e municípios, em caráter suplementar. Atualmente, o valor *per capita* diário repassado pelo governo federal aos municípios é de R\$ 1,07 para estudantes de creches; R\$ 0,53 para pré-escola; R\$ 0,64 para escolas indígenas e de remanescentes quilombolas; R\$ 0,36 para ensino fundamental e médio; R\$ 0,32 para educação de jovens e adultos; e R\$ 1,07 para ensino integral (BRASIL, 2020).

De acordo com a legislação, a elaboração dos cardápios escolares deve ser realizada por um nutricionista responsável técnico pelo Programa no município, devendo levar em consideração a utilização de gêneros alimentícios básicos, respeitar os hábitos alimentares, a cultura e a tradição local, e pautar-se na sustentabilidade, diversificação agrícola da região e na alimentação saudável e adequada. A sustentabilidade, não somente ambiental, mas econômica e social é uma das diretrizes que norteiam a proposta do Programa, que incentiva a aquisição de alimentos produzidos no âmbito local e preferencialmente provenientes da agricultura familiar, priorizando as comunidades tradicionais indígenas e de remanescentes quilombolas. Para isso, uma das premissas é que, no mínimo, 30% dos recursos federais repassados ao Programa sejam destinados à compra de alimentos produzidos pela agricultura familiar (BRASIL, 2020).

Para a OMS, alimentação sustentável é aquela que deve ter baixo impacto ambiental, contribuindo para padrões elevados de segurança alimentar e de saúde das gerações futuras. Ainda, deve ser saudável não só para os consumidores, mas também para o meio ambiente, devendo proteger e respeitar a biodiversidade e os ecossistemas, ser culturalmente aceitável, facilmente acessível, economicamente justa, nutricionalmente adequada e segura (FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2010). No entanto, dos nove limites planetários que precisam ser respeitados para que haja vida no planeta, quatro dos que já foram ultrapassados têm forte relação com a produção e consumo de alimentos. São eles o fluxo bioquímico de nitrogênio e fósforo, a integridade da biodiversidade, a alteração do sistema terrestre e as mudanças climáticas, estando o limite de acidificação dos oceanos próximo do nível de incerteza (STEFFEN et al., 2015). Os sistemas agrícolas são responsáveis por 78% da poluição dos rios e oceanos, o uso de água doce na agricultura representa 70% da captação global de água (FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017) e a cadeia de fornecimento de alimentos representa 26% das emissões de Gases do Efeito Estufa - GEE (POORE; NEMECEK, 2018).

Estudos demonstram que pecuária é considerada a principal atividade responsável pelo desmatamento dos biomas da natureza, incluindo a Amazônia, pois utiliza 30% das terras produtivas do planeta para criação de animais e destina 33% dos demais terrenos para a produção de grãos usados para alimentar esses animais, além de ser a maior responsável pela erosão de solos e contaminação de mananciais aquíferos (FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2010). Esse cenário pode ser justificado pela demanda atual de consumo de carnes e derivados. Estima-se que para cada habitante do planeta existam 10 animais terrestres, de pequeno, médio ou grande porte, criados para serem abatidos, por ano (HEINRICH BÖLL FOUNDATION et al., 2014).

A criação de animais para consumo representa um sistema longo de produção de alimentos, pois primeiro é necessário alimentar o animal para depois torná-lo um alimento. Cada um desses animais depende de água, terra, alimento e energia, além de produzir quantidade expressiva de dejetos e emitir poluentes que ficam dispersos no solo, água e ar. Para a criação de animais terrestres, por exemplo, são usadas, aproximadamente, 10 vezes mais calorias do que as contidas na sua carne por porção de consumo, o que representa uma prática ineficiente de produção de alimentos, de acordo com o Coeficiente de Eficiência Energética (ESHEL; MARTIN, 2006). Dessa forma, os sistemas de produção de alimentos de origem

vegetal para consumo humano direto tendem a ser mais sustentáveis que os de origem animal (WILLETT et al., 2019).

A rede de periódicos britânicos *Lancet* vem, desde 2015, emitindo relatórios sobre mudanças climáticas, que evidenciam que a utilização predatória de recursos ambientais motivada pelos padrões de consumo atuais leva, entre outras consequências, à promoção de doenças na população, incluindo distúrbios nutricionais (WATTS et al., 2019). O aumento do CO₂ atmosférico reduz o teor de zinco nos vegetais e essa pode ser uma das causas da deficiência do nutriente (MYERS et al., 2015), assim como o declínio das populações de abelhas pode aumentar significativamente as deficiências de vitamina A e folato na população (SMITH et al., 2015).

Em 2019 foi criada a *Eat Lancet Commission*, comissão que reúne cientistas de todo o mundo para discussão do tema. Foi então implementado o conceito de “sindemia global de obesidade, desnutrição e mudanças climáticas”, sugerindo que esses três fenômenos podem ter a mesma origem, a insustentabilidade dos sistemas de produção de alimentos. Ao mesmo tempo que contribuem para a depreciação dos recursos naturais, também fomentam a distribuição alimentar de forma injusta e desigual e provêm à população alimentos de baixa qualidade nutricional, criando os chamados “desertos alimentares”, o que contribui para o quadro de insegurança alimentar e nutricional de forma global. Segundo os cientistas, o caminho para alimentar uma população futura de 10 bilhões de pessoas com uma dieta saudável dentro dos limites do planeta requer que práticas de produção de alimentos sejam revistas, assim como novos padrões de consumo alimentar sejam encorajados. A sugestão é uma redução de, pelo menos, 50% do consumo de carnes e açúcar, e aumento de mais de 100% do consumo de vegetais até o ano de 2050 (SWINBURN et al., 2019).

Diante disso, a saúde planetária vem sendo considerada uma nova disciplina, não devendo ser dissociada da saúde humana por parte das políticas públicas de promoção de saúde. Essa é uma medida imperativa para cumprir a agenda internacional de alcance dos 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) até 2030 e da neutralidade de carbono até 2050 (WHITMEE et al., 2015). Ainda, de acordo com o Sexto Relatório de Avaliação (AR6) do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC), publicado em agosto deste ano, não há mais dúvidas de que o planeta poderá atingir o aumento de 1,5° C antes do previsto. Evitar que isso aconteça antes do final do século é fundamental e ainda é possível, mas exige mudanças estruturais em nível global (MASSON-DELMOTTE et al., 2021).

Leite e colaboradores, descrevem como fundamental que os guias alimentares incluam aspectos ambientais e aconselhem a sociedade a adotar práticas saudáveis e que estejam dentro dos limites planetários, a exemplo das dietas com baixa pegada de nitrogênio, servindo como base para promoção de políticas públicas eficazes no alcance dos ODS (COSTA LEITE et al., 2020). Essa questão já é discutida, desde 2014, pelo Guia Alimentar para a População Brasileira, que, apesar de incluir o grupo das carnes, laticínios e ovos no contexto de uma alimentação saudável, descreve que a diminuição da demanda por alimentos de origem animal reduz notavelmente as emissões de GEE, o desmatamento decorrente da criação de novas áreas de pastagens e o uso intenso de água (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Algumas iniciativas de redução do consumo de alimentos de origem animal em políticas e equipamentos públicos começaram a surgir em países da Europa. Uma experiência ocorrida na cidade de Barcelona, na Espanha, teve o objetivo de implementar refeições com baixo teor de carbono em todas as escolas e refeitórios públicos da cidade. As refeições continham alimentos sazonais, orgânicos e produzidos localmente, além de redução de alimentos de origem animal (especialmente carne bovina) e ultraprocessados. A avaliação dos indicadores ambientais dos cardápios implementados demonstrou que houve redução de 60% da pegada hídrica, 46% da demanda primária por energia, 48% do uso de terra e 53% da emissão de GEE. Além disso, foi possível aumentar em até 47% o conteúdo nutricional das refeições (BATLLE-BAYER et al., 2021).

No Brasil, o Ministério Público da Bahia (MPBA) propôs a criação do Programa Escola Sustentável, que tem como objetivo o fomento de políticas públicas, no âmbito das unidades escolares municipais, que visem a melhoria da qualidade e quantidade da alimentação escolar; prevenção de doenças; racionalização de recursos públicos financeiros e ambientais; e promoção de educação nutricional, ambiental e humanitária. O Programa foi implementado em 2018, em 4 municípios do sertão do estado, alcançando cerca de 32 mil estudantes (MPBA. MINISTÉRIO PÚBLICO DA BAHIA, 2018), usando como estratégia a redução da oferta de alimentos de origem animal e ultraprocessados na alimentação escolar, e tornou-se objeto de pesquisa do presente estudo, onde foram investigados desfechos clínicos, laboratoriais, antropométricos e na microbiota intestinal dos estudantes.

2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E SAÚDE HUMANA

A microbiota intestinal humana vem sendo alvo de considerável interesse científico nos últimos anos, especialmente após o desenvolvimento dos estudos metagenômicos. O termo microbiota refere-se a um conjunto de microrganismos incluindo bactérias, fungos, vírus e alguns eucariotos unicelulares. Nos seres humanos, estima-se que 10^{14} Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de micro-organismos habitem órgãos e tecidos do corpo, como a superfície da pele e os tratos gastrointestinal, geniturinário e respiratório (BESERRA, 2014). A microbiota digestiva é a comunidade complexa de micro-organismos que vive no trato gastrointestinal de humanos e animais, incluindo insetos. Em humanos, a microbiota intestinal concentra a maior parte dos micro-organismos e o maior número de espécies em comparação com outros órgãos do corpo, estando a maior concentração no intestino grosso (GOMAA, 2020).

No intestino, são mais de 1500 espécies de bactérias aeróbias e anaeróbias, distribuídas em mais de 50 filos. A maior parte da microbiota intestinal pertence aos filos *Firmicutes* (79,4%) e *Bacteroidetes* (16,9%), seguidos por *Actinobacteria* (2,5%), *Proteobacteria* (1%) e *Verrucomicrobia* (0,1%). A microbiota intestinal ao nascimento é caracterizada por baixa diversidade e constituída principalmente por bactérias pertencentes aos filos *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, tornando-se mais diversa à medida que fatores ambientais são associados, passando os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* a serem dominantes ao longo da vida (HIDALGO-CANTABRANA et al., 2017).

A microbiota digestiva varia também ao longo do trato gastrointestinal, estando em menor quantidade e variedade no estômago e intestino delgado, devido à ação bactericida do suco gástrico, da bile e da secreção pancreática, e ao peristaltismo. O íleo é um local de transição, entre a escassa população bacteriana do jejuno e a densa microbiota do intestino grosso, onde encontra as condições favoráveis para proliferação devido à ausência de secreções intestinais, peristaltismo lento, abundante suprimento nutricional e pH favorável (5,7 – 6,8). A população microbiana do cólon alcança 10^{10} a 10^{12} micro-organismos por grama de conteúdo luminal, superando em número o total das células eucarióticas presentes no corpo humano. Em decorrência de sua abundância no trato digestivo, as espécies bacterianas compõem até 60% da massa seca fecal. Fungos, protistas, *archaea* e vírus também estão presentes na microbiota intestinal, porém, pouco se sabe sobre suas atividades (DE SOUZA; PEREIRA, 2007).

A maior parte das bactérias intestinais (99%) é anaeróbia, com exceção do que ocorre no ceco, onde são registradas altas densidades de microrganismos aeróbios. O cólon apresenta

aproximadamente 400 a 500 espécies bacterianas, destacando-se, em ordem decrescente de concentração, os gêneros *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp., *Peptoestreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Enterobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Eubacterium* spp., bactérias metanogênicas e sulforedutoras. Os *Bacteroides* spp. parecem ser os mais abundantes, compreendendo aproximadamente 30% das bactérias do intestino, seguidos de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp., o que sugere que esses gêneros sejam particularmente significativos no funcionamento do organismo hospedeiro (GOMAA, 2020).

A microbiota intestinal é benéfica para o indivíduo quando há simbiose com o hospedeiro. As bactérias que apresentam metabolismo sacarolítico quase exclusivo e pouca atividade proteolítica possuem características probióticas, como as bifidobactérias e os lactobacilos, enquanto outras podem desempenhar tanto efeitos patogênicos quanto probióticos, como os bacteroides (DE SOUZA; PEREIRA, 2007).

O gênero *Bifidobacterium* spp. pertence ao filo *Actinobacteria*, compreende 29 espécies e representa uma das maiores unidades taxonômicas bacterianas. As bifidobactérias são microorganismos Gram-positivos, catalase negativa, anaeróbios estritos, não possuem motilidade, não formam esporos e habitam naturalmente o trato gastrointestinal dos seres humanos. Em relação à morfologia, podem apresentar várias formas, que incluem bacilos curtos e curvados a bacilos com extremidade em forma de V ou Y. O gênero *Lactobacillus* spp. pertence ao filo *Firmicutes*, compreende em torno de 70 espécies e inclui bastonetes Gram-positivos, anaeróbicos facultativos, não móveis, não formadores de esporos, catalase negativos e pertencentes ao grupo das bactérias formadoras de ácido láctico. Devido ao seu metabolismo, os lactobacilos estão entre as bactérias dominantes do intestino delgado proximal, duodeno e jejuno, onde os substratos ricos em carboidratos são facilmente encontrados e utilizados como fonte primária de energia (BESERRA, 2014).

A microbiota intestinal saudável desenvolve funções importantes no organismo, que podem ser classificadas em três grupos: metabolismo, proteção e trofismo. A função de metabolismo está relacionada à síntese, digestão e absorção de nutrientes e à modulação da comunicação cérebro-intestino. A função de proteção tem relação com a prevenção do crescimento de microrganismos patogênicos, seja por competição de sítio de colonização ou pela capacidade de produção de peptídeos antimicrobianos. A função trófica se dá pelo estímulo à proliferação e diferenciação do epitélio intestinal, e pelo desenvolvimento e modulação do sistema imune (BESERRA, 2014).

Em relação ao efeito da microbiota intestinal no metabolismo do hospedeiro, é preciso destacar a capacidade de sintetizar diversas vitaminas, como tiamina, riboflavina, pantotenato, cobalamina, biotina e vitamina K. A microbiota também é responsável por metabolizar componentes alimentares, como antinutrientes e compostos bioativos, em substâncias capazes de serem absorvidas e que têm grande importância nutricional para o organismo. No processo de fermentação de carboidratos não digeridos no trato gastrointestinal superior, como celulose, hemicelulose, amido resistente, pectina, oligossacarídeos e lignina, as bactérias do cólon produzem hidrogênio, metano, dióxido de carbono, lactato e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato e butirato. A síntese desses ácidos reduz o pH da mucosa intestinal aos níveis ideais para absorção de minerais, como ferro e cálcio, e desempenha papel central em diversos outros mecanismos (GOMAA, 2020).

O eixo intestino-cérebro é definido como um sistema de comunicação bidirecional entre a microbiota intestinal e o sistema nervoso central (SNC). A função desse sistema é coordenar mecanismos como reflexo entérico, permeabilidade intestinal, ativação imune e sinalização enteroendócrina. Os mecanismos pelos quais a microbiota intestinal exerce efeitos no SNC parecem ter relação também com os AGCC circulantes, que afetam positivamente a integridade da barreira hematoencefálica, por meio do aumento da síntese das proteínas de adesão (*tight junctions*), e limita a entrada de metabólitos indesejáveis no tecido cerebral (IGLESIAS-VÁZQUEZ et al., 2020).

A função de proteção do hospedeiro se dá de forma direta e indireta. A microbiota intestinal representa uma barreira física formada por componentes celulares do endotélio vascular e por células epiteliais. Sob condições normais, as bactérias anaeróbias residentes no cólon proliferam formando uma camada sob a superfície da mucosa intestinal que limita a colonização e crescimento de micro-organismos potencialmente patogênicos. Além disso, de forma indireta, a redução do pH resultante da síntese de AGCC inibe o crescimento de bactérias patogênicas, a degradação de peptídeos antimicrobianos, a atividade de enzimas bacterianas indesejáveis e a formação de compostos tóxicos (BESERRA, 2014).

A microbiota é capaz de exercer efeito trófico da mucosa intestinal devido ao fato de que os AGCC constituem a principal fonte de energia para os enterócitos e colonócitos, estimulando e regulando a proliferação e diferenciação celular do epitélio, efeito desempenhado principalmente pelo butirato. Adicionalmente, pode-se dizer que a microbiota intestinal funciona como uma barreira imunológica do corpo humano. O sistema imune, imaturo ao nascimento, se desenvolve após a colonização da microbiota intestinal, o que estimula o

aumento do número de placas de *Peyer*, a liberação de imunoglobulinas e o reconhecimento das células dendríticas (BESERRA, 2014).

Nesse contexto, efeitos probióticos relacionados às bifidobactérias incluem a recuperação da microbiota intestinal após antibioticoterapia, redução dos níveis séricos de colesterol, por meio da degradação e eliminação dos ácidos biliares, e atividade imunomoduladora, melhorando a resistência aos patógenos e a atividade antitumoral (HIDALGO-CANTABRANA et al., 2017). Os lactobacilos apresentam atividade probiótica por promoverem regulação da microbiota intestinal, por meio da atividade antimicrobiana, melhora do metabolismo da lactose e redução dos níveis séricos de colesterol (BESERRA, 2014).

Vários são os fatores que podem alterar a composição e a função da microbiota intestinal. Além da susceptibilidade genética, o tipo de parto, o aleitamento materno, a idade, a localização geográfica, o uso de antibióticos e o padrão dietético exercem efeito importante (RONAN; YEASIN; CLAUD, 2021).

A colonização bacteriana varia em função do tipo de parto, sendo a microbiota intestinal de crianças nascidas pelo parto vaginal mais diversa e abundante em espécies com atividade probiótica do que a microbiota de crianças nascidas pelo parto cesariana. O processo é normalmente iniciado por cepas anaeróbicas facultativas pertencentes ao filo *Proteobacteria*, que reduzem a concentração de oxigênio e permitem a colonização por cepas anaeróbias. Durante os primeiros dias de vida, *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. e *Streptococcus* spp. colonizam o trato gastrointestinal, e com a amamentação se desenvolvem as bifidobactérias e os lactobacilos (DE SOUZA; PEREIRA, 2007).

O período mais importante de desenvolvimento da microbiota é o primeiro ano de vida. Após essa fase, diversos fatores influenciam a quantidade, a diversidade e o metabolismo da microbiota. Em crianças e adolescentes o filo *Actinobacteria* é predominante, em especial o gênero *Bifidobacterium* spp. Na vida adulta os filios *Firmicutes* e *Bacteroidetes* são mais abundantes. Em idosos há redução dos gêneros *Bifidobacterium* spp. e *Bacteroides* spp., e aumento da abundância de *Clostridium* spp. e *Eubacterium* spp. (IHEKWEAZU; VERSALOVIC, 2018).

Crianças amamentadas exclusivamente com leite materno até o sexto mês de vida tendem a apresentar crescimento de *Actinobacteria*, com destaque para *Bifidobacterium* spp., e inibição de *Firmicutes* e *Proteobacteria*, resultante do metabolismo dos oligossacarídeos

presentes no leite humano. Já crianças alimentadas com fórmulas infantis apresentam maior abundância de *Clostridium* spp. e *Bacteroides* spp. (IHEKWEAZU; VERSALOVIC, 2018).

Após a infância a microbiota continua a se desenvolver e a dieta se torna a principal responsável pela sua estrutura, forma e variedade. Dietas baseadas em vegetais, em função do maior quantitativo de fibras, estão relacionadas à maior variação das espécies microbianas, com prevalência dos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Já o padrão alimentar rico em alimentos de origem animal e gorduras está relacionado à maior abundância de espécies tolerantes à bile, como *Bacteroides* spp., e supressão de *Firmicutes* (DAVID et al., 2013; IDDRISU et al., 2021).

Indivíduos que vivem em regiões mais industrializadas apresentam maior abundância de *Bacteroidetes*, enquanto adultos com estilo de vida rural apresentam maior abundância de *Firmicutes* (ZHUANG et al., 2019). Aqueles expostos ao uso de antibióticos tendem a apresentar alterações na quantidade, diversidade e metabolismo da microbiota, devido à alteração do mecanismo de competitividade pelo qual a microbiota inibe a colonização de cepas patogênicas. Esse efeito varia em função do tipo de antibiótico, dose e tempo de uso (GONG et al., 2021).

Em relação aos fatores genéticos, o controle da colonização bacteriana parece estar relacionado à disponibilidade e características dos sítios de adesão na mucosa intestinal, geneticamente determinados. A especificidade na ligação da bactéria com um receptor de mucosa permite a colonização do hospedeiro, caso contrário ela tende a ser eliminada pelo peristaltismo intestinal. As bactérias autóctones habitam permanentemente o trato gastrointestinal, como as bifidobactérias e os lactobacilos, enquanto as bactérias alóctones habitam temporariamente, uma vez que não possuem uma adequada adesão à mucosa (DE SOUZA; PEREIRA, 2007).

A microbiota saudável é definida como aquela que conserva e promove o bem-estar e a ausência de doenças, especialmente do trato gastrointestinal. Embora a microbiota intestinal seja relativamente estável durante a vida, como demonstrado anteriormente, alguns fatores podem afetar este equilíbrio, desencadeando aumento de bactérias patogênicas e configurando situação de risco. Algumas dessas bactérias podem colonizar o intestino delgado, o que causa consideráveis prejuízos à função digestiva e ao organismo como um todo (BESERRA, 2014).

O desequilíbrio da população microbiana, com predomínio de bactérias patogênicas sobre aquelas de atuação probiótica, é caracterizado como disbiose intestinal. A disbiose é definida como um estado em que a microbiota intestinal produz efeitos nocivos ao hospedeiro por meio de mudanças qualitativas e quantitativas da sua composição, mudanças no

metabolismo da população bacteriana e alterações na distribuição das bactérias. Entre os fatores causais dessa disfunção estão a dieta ocidentalizada e o uso indiscriminado de antibióticos. As alterações na microbiota estão relacionadas com o desenvolvimento de diversos distúrbios, como síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias intestinais, hepáticas, cardiovasculares e autoimunes, obesidade, diabetes e alergias (PELLIZONI et al., 2021).

A principal consequência direta da disbiose é o aumento da permeabilidade da mucosa intestinal, o que pode induzir a endotoxemia ocasionada por aumento de lipopolissacarídeos (LPS), fragmentos de bactérias intestinais Gram-negativas; ao aumento da síntese de citocinas pró-inflamatórias; à infiltração de macrófagos no tecido adiposo; e ao consequente processo inflamatório local e sistêmico, representando efeito importante no desencadeamento de resistência periférica à insulina, obesidade, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (PELLIZONI et al., 2021).

Adicionalmente, microbiota intestinal participa da regulação do metabolismo energético por vários mecanismos, incluindo a absorção de energia a partir da dieta e a modulação de hormônios gastrointestinais. Dessa forma, em condição de disbiose, a microbiota pode contribuir de forma significativa para o surgimento da obesidade. A fermentação de polissacarídeos não digeríveis por parte da microbiota intestinal induz o aumento da absorção de energia devido à maior absorção dos monossacarídeos e dos AGCC resultantes desse processo. Os AGCC atuam também estimulando a síntese do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e do peptídeo tirosina tirosina (PYY) pelas células do intestino delgado distal e do cólon. O GLP-1 estimula a proliferação das células β -pancreáticas, assim como a secreção de insulina por elas. O PYY inibe as secreções gástrica e pancreática, e o esvaziamento gástrico, permitindo maior tempo de contato entre a microbiota e os substratos energéticos, a fim de prolongar a síntese de AGCC (BOUTER et al., 2017). A microbiota de indivíduos com obesidade apresenta maior abundância de cepas com capacidade de fermentação e de captação de energia da dieta, resultante de uma maior proporção de *Firmicutes* em relação à *Bacteroidetes*. Tende também a apresentar menor abundância de *Bifidobacterium* spp. e algumas espécies de *Lactobacillus* spp., como *L. lantarum* (GOMAA, 2020).

Outro aspecto importante é a capacidade da microbiota de metabolizar colina e carnitina, uma vitamina e um aminoácido, respectivamente, abundantes no padrão dietético ocidental por estarem presentes em maior quantidade em alimentos de origem animal. O resultado do metabolismo desses compostos é a síntese de trimetilamina (TMA), que é oxidada no fígado dando origem à *trimethylamine-N-oxide* (TMAO), que, por sua vez, leva à supressão de enzimas

que sintetizam ácidos biliares e transportadores de colesterol, o que está relacionado à patogênese da aterosclerose (KOETH et al., 2013). A microbiota intestinal de indivíduos com doenças cardiovasculares (DCV) apresenta menor abundância de cepas produtoras de butirato, como *Bifidobacterium* spp. (GOMAA, 2020).

Indiani e colaboradores, em um estudo de revisão sistemática, demonstraram que o aumento do filo *Firmicutes* e a redução do filo *Bacteroidetes*, em especial dos gêneros *Bacteroides* spp. e *Prevotella* spp., estava relacionado ao excesso de peso em crianças entre 0 e 13 anos. As espécies *Clostridium leptum*, *Eubacterium hallii* e *Lactobacillus* spp. indicaram armazenamento de tecido adiposo, enquanto *Clostridium difficile* e o gênero *Staphylococcus* spp. foram correlacionados com a presença de baixo IMC (INDIANI et al., 2018). Riva et al, em 2017, observaram em crianças de 6 a 17 anos que a obesidade foi associada a níveis elevados de *Firmicutes* e depletados de *Bacteroidetes* na microbiota intestinal (RIVA et al., 2017).

Apesar de terem efeito na saúde humana elucidados pela literatura no que diz respeito à integridade da mucosa intestinal e do funcionamento digestivo, os estudos que visam relacionar bifidobactérias com desfechos metabólicos, como obesidade e DCV, apresentam resultados conflitantes, em especial na população infantil. Da mesma forma, as bifidobactérias, por pertencerem ao filo *Actinobacterias*, não são comumente avaliadas quando o interesse é investigar a proporção entre *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, o que representa uma lacuna na literatura científica sobre esse tema.

3 JUSTIFICATIVA

A prevalência de DCNT vem aumentando de forma significativa na população brasileira em idade escolar, sendo considerada um problema de saúde pública que pode impactar negativamente o crescimento e desenvolvimento desses indivíduos, além de contribuir para a sobrecarga do Sistema Único de Saúde (SUS). Esse cenário parece ser influenciado por múltiplos fatores, incluindo práticas alimentares não saudáveis e desequilíbrio da microbiota intestinal. Estudos demonstram que o padrão alimentar ocidental, caracterizado por grande consumo de alimentos industrializados e maior participação calórica proveniente de alimentos de origem animal, está relacionado ao desequilíbrio da microbiota intestinal, com predominância de bactérias patogênicas. De forma oposta, o maior consumo de alimentos de origem vegetal e minimamente processados vem sendo relacionado à predominância de bactérias probióticas na microbiota intestinal.

A escola exerce influência fundamental na formação de hábitos alimentares saudáveis, seja pela promoção de educação nutricional ou pela oferta de refeições. No Brasil, o PNAE fornece refeições para mais de 46 milhões de estudantes durante 200 dias letivos por ano. No âmbito local, o MPBA propôs uma ação estratégica de enfrentamento aos distúrbios nutricionais na população em idade escolar e de promoção de sustentabilidade social, econômica e ambiental. Entre as propostas do PES estava a redução da oferta de alimentos de origem animal e ultraprocessados na alimentação escolar de uma população específica.

Os estudos de abrangência nacional que avaliam o estado nutricional e metabólico de crianças e adolescentes brasileiros apresentam grande relevância, no entanto apresentam limitações quanto à disponibilização de dados sobre a população fora das capitais. Da mesma forma, pesquisas que buscam avaliar a composição da microbiota intestinal da população em idade escolar ainda são pouco disponíveis em nosso meio. Ademais, embora encontre consonância na literatura científica, a proposta do MPBA é inédita na população brasileira, o que reforça a necessidade de acompanhamento do seu impacto, em especial na saúde dos indivíduos expostos.

Ressalta-se que os resultados deste estudo de intervenção contribuirão para o conhecimento das condições de saúde da população em idade escolar no âmbito local e poderão nortear a implementação e o realinhamento de políticas públicas de SAN.

3.1 HIPÓTESE

As concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp. têm associação com parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos em indivíduos em idade escolar.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação entre as concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp. e parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos em um grupo de estudantes da rede municipal de ensino do sertão do estado da Bahia submetido a um programa de intervenção na alimentação escolar.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar as características clínicas, as características do consumo alimentar e o diagnóstico laboratorial e antropométrico dos participantes do estudo, e sua associação com a zona geográfica da escola (rural ou urbana);
2. Avaliar a associação entre zona geográfica da escola (rural ou urbana), características clínicas e do consumo alimentar, diagnóstico laboratorial e antropométrico, e as concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp.;
3. Determinar as características nutricionais dos cardápios escolares implementados no âmbito do Programa Escola Sustentável;
4. Avaliar o impacto da intervenção alimentar no contexto do Programa Escola Sustentável nas concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp., e sua associação com parâmetros laboratoriais e antropométricos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Esta pesquisa de doutorado é parte integrante de um estudo maior intitulado “Avaliação de um projeto de intervenção na merenda escolar sobre a saúde de crianças e adolescentes no sertão da Bahia”, que inclui pesquisadores e estudantes de mestrado e doutorado da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - Instituto Gonçalo Moniz (IGM) e Universidade de Manchester, no Reino Unido. O estudo maior tem como objetivo avaliar o impacto da intervenção alimentar proposta pelo MPBA na saúde da população, o que vem sendo desenvolvido pela EBMSP e pela Fiocruz-IGM, e, recentemente, agregou o intuito de identificar também o impacto social e ambiental na comunidade envolvida, eixo desenvolvido pela parceria com a Universidade de Manchester (Manchester, Reino Unido).

A presente tese de doutorado inclui duas abordagens de delineamento, sendo a primeira um corte transversal e a segunda de intervenção, na qual foi feita avaliação de uma amostra dos indivíduos expostos à intervenção em dois momentos.

5.2 INTERVENÇÃO A SER AVALIADA

O PES, ação estratégica do MPBA, tem como objetivo o fomento de políticas públicas, no âmbito das unidades escolares municipais, que visem a melhoria da qualidade e quantidade da alimentação escolar; prevenção de doenças; racionalização de recursos públicos financeiros e ambientais; e promoção de educação nutricional, ambiental e humanitária. O Programa foi implementado em 2018 em 4 municípios do sertão do estado, alcançando 137 escolas, 30 creches e, aproximadamente, 32 mil estudantes (MPBA. MINISTÉRIO PÚBLICO DA BAHIA, 2018).

Em 2018 foram desenvolvidas atividades de sensibilização dos gestores locais e da sociedade civil; capacitação técnica das cozinheiras escolares; fortalecimento da agricultura familiar local; planejamento para melhoria da estrutura física das escolas, incluindo reforma das cozinhas; ações de educação nutricional e ambiental, envolvendo os escolares e toda a comunidade; e testes de aceitabilidade, por parte dos estudantes, das preparações a serem implementadas nos cardápios.

Em 2019 foi iniciada a mudança dos cardápios escolares, implementados pelas nutricionistas responsáveis técnicas pela alimentação escolar nos municípios, que previa a substituição gradual dos itens de origem animal por vegetais até o final do ano letivo de 2020. A previsão era de que no ano 2019 o cardápio baseado em vegetais fosse implementado duas vezes por semana, sendo ampliado para três vezes no primeiro semestre de 2020 e quatro vezes por semana no final de 2020. No entanto, a pandemia de COVID-19 e a consequente suspensão das aulas presenciais no início do ano letivo de 2020, em função da necessidade de distanciamento social, levaram à interrupção do curso das atividades.

5.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Escolares das cidades de Barrocas, Biritinga, Serrinha, Teofilândia e Valente, no sertão do estado da Bahia, regularmente matriculados na rede pública municipal de ensino nos anos de 2019 e 2020 foram convidados para participar do estudo. As características sociodemográficas dos municípios podem ser observadas no **Quadro 1**.

Quadro 1 - Características sociodemográficas dos municípios que compuseram a amostra do estudo nos anos de 2019 e 2020.

Indicadores	Município				
	Barrocas	Biritinga	Serrinha	Teofilândia	Valente
População (número de pessoas) ¹	14.191	14.836	76.762	21.482	29.111
População com rendimento mensal <i>per capita</i> de até 1/2 salário-mínimo ¹	50,5%	55,4%	46,9%	52,3%	40,9%
Taxa de escolarização de 6 a 14 anos ¹	98,7%	98%	97,3%	96,8%	98,7%
Estabelecimentos de ensino fundamental ²	20	36	71	21	29
Estabelecimentos de ensino médio ²	1	1	11	2	4
Estabelecimentos de Saúde SUS ³	16	24	38	10	17
Taxa de esgotamento sanitário adequado ¹	26,9%	15,5%	49,1%	22,2%	45,9%
Índice de Desenvolvimento Humano Municipal ¹	0,610	0,538	0,634	0,566	0,637
Bioma	Caatinga	Caatinga	Caatinga	Caatinga	Caatinga

¹Censo (dados de 2010). ²Ministério da Educação (dados de 2020). ³Ministério da Saúde (dados de 2009).

Fonte: (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, [s.d.]).

A partir da lista de estudantes matriculados em 2019 na rede municipal de ensino dos municípios de Barrocas, Biritinga, Serrinha e Teofilândia, onde o PES foi implementado, foram aleatoriamente selecionados 350 indivíduos para participação do estudo maior (proporção estimada de excesso de peso de 20%; intervalo de confiança da média de 95%; precisão desejada de 4%). Por questões orçamentárias relacionadas à análise da microbiota fecal, para realização do presente estudo uma subamostra do projeto original foi selecionada, de forma igualmente aleatória por meio de sorteio, resultando em 124 indivíduos alocados em 15 unidades escolares das regiões rural e urbana, de forma a manter o critério de proporcionalidade da amostra ao tamanho das Diretorias Regionais de Educação (DRE). Com base no tamanho do efeito esperado de 0,5, de acordo com o estudo desenvolvido por Fava e colaboradores (FAVA et al., 2022), e uma probabilidade de erro alfa de 0,05, essa subamostra confere ao estudo um poder de 99%.

A fim de agregar robustez ao estudo, uma outra amostra de 124 indivíduos foi selecionada, por conveniência, como grupo controle, provenientes de 3 unidades escolares do município de Valente, adjacente e que não integrou o escopo do Programa. No entanto, a pandemia de COVID-19 levou à interrupção das atividades de coleta de dados no início de 2020, de forma que o grupo controle resultou em 66 indivíduos. A avaliação transversal deste estudo considera a amostra de 190 indivíduos, sendo os 124 do grupo exposto à intervenção somados aos 66 do grupo não exposto. A abordagem de intervenção foi feita com os 124 indivíduos expostos sendo também comparados aos 66 não expostos, conforme esquematizado na **Figura 1**.

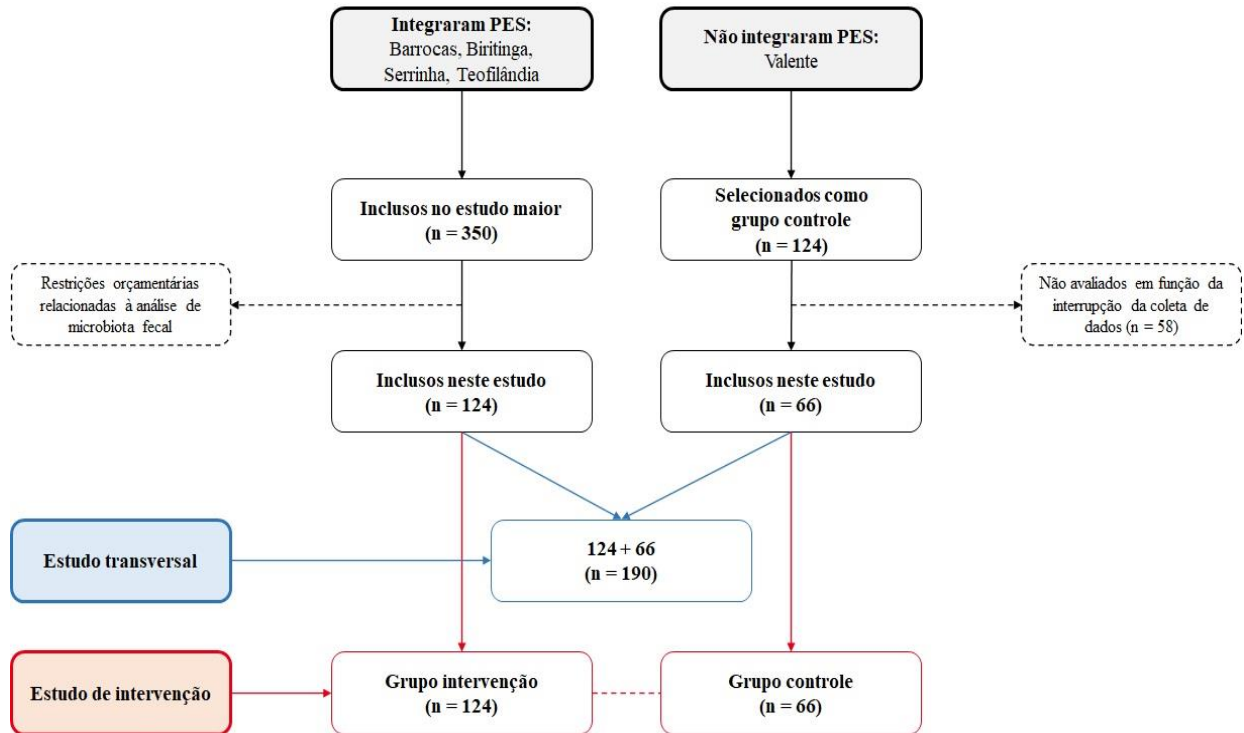


Figura 1 – Fluxograma de seleção da amostra do estudo.

Fonte: Elaboração da autora

Foram incluídos no estudo indivíduos com idade entre 5 e 19 anos, que não apresentavam diagnóstico prévio de doenças intestinais, alergias e intolerâncias alimentares. Foi considerado critério de exclusão o uso de antibióticos nos 30 dias que antecederam a coleta do material fecal.

5.4 COLETA DOS DADOS

A previsão inicial era de que o estudo longitudinal de intervenção teria duração de dois anos, sendo feitas coletas em três momentos, ao início e ao final do ano letivo de 2019, e ao final do ano letivo de 2020. A interrupção do calendário escolar no início do ano letivo de 2020 em função da pandemia de COVID-19 levou à reformulação do cronograma de coleta de dados e o período de observação da exposição foi reduzido para um ano, limitado a 2019. Os 124 indivíduos expostos à intervenção foram avaliados em dois momentos, no início (D0) e no final do ano letivo de 2019 (D240). O grupo controle seria avaliado em dois momentos, ao início e ao final do ano letivo de 2020. Em função da alteração do cronograma, os 66 indivíduos não expostos à intervenção foram avaliados em um único momento, no início do ano letivo de 2020. A avaliação incluiu dados clínicos, dietéticos, laboratoriais e antropométricos. A coleta dos

dados foi feita por equipe treinada, pela manhã, nas instalações das unidades escolares nas quais os indivíduos estavam regularmente matriculados.

5.4.1 Avaliação clínica

A avaliação clínica foi realizada por meio de entrevista presencial, orientada por um questionário previamente estruturado (em apêndice) contendo perguntas sobre o histórico clínico do indivíduo, a ser respondido pelo representante legal. Além dos dados de identificação, as perguntas incluíram tipo de parto, presença e tempo de duração do aleitamento materno exclusivo, histórico de doenças, histórico familiar e uso de medicações.

5.4.2 Avaliação do consumo alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi feita de forma retrospectiva, por meio do instrumento validado Recordatório de 24 horas (em apêndice), que se fundamenta na identificação e quantificação de todos os alimentos ingeridos no dia que antecede a entrevista. Para auxílio no preenchimento das informações e determinação mais fidedigna do porcionamento preparações consumidas foi usado um álbum fotográfico de porções alimentares (CRISPIM, 2017), onde o indivíduo e ou seu responsável legal indicava ao entrevistador o tamanho da porção do alimento consumido. Para avaliação quantitativa do consumo alimentar foram usados os instrumentos Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, [s.d.]) e Tabela de Composição Centesimal de Alimentos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2011). Para avaliação qualitativa foi usada a classificação NOVA (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

5.4.3 Avaliação dos cardápios escolares

Para avaliação dos cardápios implementados pelas nutricionistas responsáveis técnicas pela alimentação escolar nos municípios expostos à intervenção, os mesmos foram separados em duas categorias, devido à diferença entre o número de refeições ofertadas por dia, itens que compuseram as refeições e quantidades de consumo *per capita*. A primeira categoria incluiu os cardápios ofertados em creches e unidades de pré-escola, que incluíam 3 refeições por dia, e a

segunda categoria foi composta pelos cardápios implementados nas unidades de ensino fundamental, médio e de jovens e adultos, que incluíam 2 refeições por dia. Para análise foi selecionada uma amostra composta pelas 30 refeições mais repetidas nos cardápios da primeira categoria, 15 contendo alimentos de origem animal e 15 baseadas em vegetais, e pelas 20 refeições mais repetidas nos cardápios da segunda categoria, 10 contendo alimentos de origem animal e 10 baseadas em vegetais. Essas 30 refeições da primeira categoria e 20 refeições da segunda categoria representam as preparações mais ofertadas aos estudantes dos municípios que integraram o escopo do Programa Escola Sustentável no ano de 2019 e foram analisadas para fins de comparação entre aquelas que continham alimentos de origem animal, intituladas “cardápio convencional”, e as baseadas em vegetais, intituladas “cardápio sustentável”.

Para avaliação quantitativa da composição nutricional das refeições foi usado o instrumento Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, [s.d.]) e para avaliação qualitativa foi usada a classificação NOVA (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A avaliação da adequação nutricional dos cardápios foi feita com base nas determinações da Resolução do PNAE então vigente (BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, 2009), que especifica a oferta diária mínima de calorias totais, carboidratos, proteínas, lipídios, fibras, vitaminas A e C, cálcio, ferro, magnésio e zinco na alimentação escolar, assim como os níveis máximos permitidos de gordura saturada, açúcar e sódio. Apesar de não ser determinada pela legislação, optou-se por incluir na análise as quantidades de colesterol e vitamina B12, usando como referência para avaliação da adequação os valores de ingestão diária recomendados pelo *Institute of Medicine* (INSTITUTE OF MEDICINE, 1998; TRUMBO et al., 2002), considerando-se a obrigatoriedade de oferta de 70% das necessidades de ingestão diária de nutrientes para os cardápios praticados em creches e pré-escolas, e 30% para cardápios aplicados em escolas do ensino fundamental, médio e de jovens e adultos.

5.4.4 Avaliação laboratorial

A avaliação laboratorial incluiu parâmetros sanguíneos e fecais. As amostras de sangue foram coletadas com o indivíduo em jejum, por equipe técnica especializada, e analisadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) da região e por laboratórios privados, sob fomento e responsabilidade da Secretaria de Saúde dos municípios envolvidos. Foram avaliados os indicadores: hemograma, glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, ferritina,

vitamina B12 e 25-OH-vitamina D3. As amostras de sangue foram posteriormente encaminhadas para armazenamento no biorrepositório da EBMSp.

As amostras de fezes foram coletadas pelos participantes e ou responsáveis legais, sendo acondicionadas em recipientes estéreis previamente fornecidos pela equipe de pesquisa, para análise da microbiota fecal. O material foi entregue para a equipe de pesquisa e transportado a 4° C até laboratórios privados de apoio local, onde foi feita a extração de uma alíquota que, posteriormente, foi transportada em gelo seco até o Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX), no Instituto Gonçalo Moniz (IGM) - Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), na cidade de Salvador, para ser armazenado a -20° C até o momento da análise. O restante do material fecal foi encaminhado para análise parasitológica em um laboratório privado também em Salvador.

A extração do DNA bacteriano das fezes foi feita com o kit QIAamp PowerFecal DNA Kit® (QIAGEN, Canadá), de acordo com as especificações do fabricante. Foi feita quantificação e análise da pureza do DNA extraído, utilizando o equipamento de espectrofotometria NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos).

A quantificação da microbiota de interesse foi feita pelo método Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR), usando o equipamento Real-time PCR 7500® (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Para quantificação das bactérias totais - *Total Bacteria* (TB) foram usados os iniciadores *Primer Forward* ACTCCTACGGGAGGCAGCAG e *Primer Reverse* ATTACCGCGGCTGCTGG, e para análise de *Bifidobacterium* spp. (BIF) foram usados os iniciadores *Primer Forward* GCGTGCTTAACACATGCAAGTC e *Primer Reverse* CACCCTTCCAGGAGCTATT (Ludwig Biotecnologia®). As análises foram feitas usando 1 µL da amostra de DNA extraído, 5 µL de Sybr Green Master Mix® (Applied Biosystems, Estados Unidos), 0,1 µL de *Primer Forward*, 0,1 µL de *Primer Reverse* e 3,8 µL de água ultrapura, somando na reação final 10 µL em cada poço da placa. O processo foi feito tanto para quantificação de TB quanto para quantificação de BIF. A programação de amplificação executada no equipamento foi: 50° C por 2 minutos, 95° C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos a 95° C por 1 segundo e a 60° C por 1 minuto, adicionando a *Melt Curve Stage* (95° C por 15 segundos, 60° C por 1 minuto, 95° C por 30 segundos, 60° C por 15 segundos).

O *software* acoplado ao equipamento fornece o resultado da amplificação do DNA alvo na forma de um valor de ciclo de limiar - *Threshold Cycle* (Ct). Dele foi extraído um valor de delta Ct (Δ Ct), resultado da subtração do Ct do gene alvo (BIF) do Ct do gene de referência (TB), conforme demonstrado na **equação 1**. Os resultados da quantificação foram apresentados

em Unidades de Expressão Relativa - *Relative Expression Units* (REU), dividindo 10.000 por 2 elevado a delta Ct, de acordo com o modelo de Albesiano e colaboradores (ALBESIANO et al., 2003), conforme demonstrado na **equação 2**. Esses resultados expressam uma estimativa da abundância do gênero bacteriano de interesse em relação ao total de bactérias da amostra.

Equação 1:

$$\Delta Ct = Ct \text{ do gene alvo (BIF)} - Ct \text{ do gene de referência (TB)}$$

Equação 2:

$$REU = \frac{10.000}{2^{\Delta Ct}}$$

5.4.5 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada por meio do indicador Índice de Massa Corporal (IMC) para Idade (IMC/I). Com o indivíduo vestindo o uniforme da escola, a aferição do peso foi feita por meio de balança eletrônica digital (Seca[®], Hamburgo, Alemanha) com capacidade máxima de 150 Kg e precisão de 0,1 kg. A altura foi mensurada com o estudante sem sapatos, por meio de um estadiômetro vertical portátil (AVA-312[®], Brasil) graduado em centímetros, com capacidade máxima de 2,10 m e precisão de 0,001 m. Ambos os equipamentos estavam calibrados por assistência técnica credenciada pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). O IMC foi calculado por meio da fórmula de *Quetelet* (peso em kg/altura em metros²) e o IMC/I foi classificado de acordo com a análise de *escore-z*, com base nas curvas de crescimento infantil da OMS para determinação do estado nutricional (WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

Para fins de avaliação de risco cardiovascular foi avaliada a Circunferência da Cintura (CC), aferida com auxílio de fita métrica inelástica (Balmak[®], Brasil) com faixa de medição de 0 a 150 cm e graduação em milímetros. As medidas de CC foram comparadas com as curvas propostas por Fernandez (FERNÁNDEZ et al., 2004). Foi então calculada a Relação Cintura-Estatura (RCE), conforme proposto por McCarthy e Ashwell (MCCARTHY; ASHWELL, 2006) e validado para crianças e adolescentes por Nambiar e colaboradores (NAMBIAR et al., 2009), tendo sido considerado risco cardiovascular valores superiores a 0,5. Foi investigado também o fenótipo de cintura hipertrigliceridêmica, sendo considerado presente na ocorrência

simultânea de circunferência da cintura superior ao adequado para sexo e idade, e hipertrigliceridemia (SILVA et al., 2020; TAYLOR et al., 2000).

5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para tabulação dos dados coletados foi usada a plataforma RedCap[®], com inclusão dos dados em dupla entrada e sob supervisão dos coordenadores da pesquisa. As análises estatísticas foram feitas por meio dos *softwares* R[®] versão 4.1.0, GraphPad Prism[®] versão 8.2.1 e Stata[®] versão 11. Para caracterização da amostra foi realizada a análise descritiva. Após verificação do comportamento de normalidade das variáveis numéricas, por meio dos testes *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*, foram estabelecidas as medidas de tendência central e dispersão, sendo consideradas as médias e seu respectivo desvio-padrão para as variáveis paramétricas, e as medianas e seus e intervalos interquartis para as não paramétricas. Para fins de comparação entre essas medidas foram usados os testes: t de *Student* para variáveis paramétricas; *Mann-Whitney* para as não paramétricas; e *Kruskal-Wallis* para avaliação de 2 ou mais variáveis não paramétricas. As variáveis categóricas foram comparadas por meio dos testes: qui-quadrado de *Pearson* e Exato de *Fisher*, quando adequado. A estatística inferencial foi feita pelas correlações de *Pearson* para variáveis paramétricas; *Spearman* para as não paramétricas; e pelo modelo de regressão logística binomial para investigação de medidas de associação (razão de prevalência). A avaliação longitudinal foi feita usando os testes: t de *Student* pareado para variáveis paramétricas; e *Wilcoxon* para as não paramétricas. Foram considerados significativos valores de p menores que 0,05.

5.6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa original intitulada “Avaliação de um projeto de intervenção na merenda escolar sobre a saúde de crianças e adolescentes no sertão da Bahia” (CAAE: 91282318.3.0000.5544), na qual o presente estudo está inserido, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública no dia 17 de setembro de 2018, sob o parecer de número 2.962.623, conforme determinado pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL., 2013).

A participação do indivíduo no estudo foi condicionada à concordância voluntária por parte do mesmo e ou de seu responsável legal, documentada pela assinatura do Termo de

Assentimento (TA), quando cabível, e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), ambos em apêndice, após serem devidamente informados sobre os aspectos relacionados à pesquisa.

Todas as atividades de coleta de dados contaram com a presença de um médico. Após as avaliações com o indivíduo em jejum, todos receberam refeição completa ofertada pelas escolas e sob supervisão das nutricionistas responsáveis técnicas pela alimentação escolar dos municípios.

Os indivíduos avaliados receberam os resultados das avaliações antropométrica e laboratorial, além de orientações nutricionais para uma alimentação saudável. Aqueles com diagnóstico de hiperglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, excesso de peso e anemia ferropriva receberam orientações nutricionais específicas. Os casos graves de deficiência de vitamina B12 e valores insuficientes de ferritina foram orientados quanto à reposição medicamentosa, custeada pela Secretaria de Saúde por meio do Ministério Público. Os casos graves de hiperglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e excesso de peso, para os quais houve indicação de acompanhamento individualizado, foram encaminhados para o Centro de Diabetes e Endocrinologia da Bahia (CEDEBA), em Salvador.

6 RESULTADOS

6.1 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 1

Os resultados apresentados neste capítulo se referem ao primeiro manuscrito produto da tese, submetido à publicação em novembro de 2022, e respondem ao primeiro objetivo específico da pesquisa - Determinar as características clínicas, as características do consumo alimentar e o diagnóstico laboratorial e antropométrico dos participantes do estudo, e sua associação com a zona geográfica da escola (rural ou urbana).

Título: *Ultra-processed food consumption is related to higher trans fatty acids and sugar intake, and micronutrients impaired status in schoolchildren of Bahia, Brazil.*

Periódico: *Nutrients* (open access; fator de impacto 6,706; classificação A2 para área de avaliação Medicina II).

DOI: <<https://doi.org/10.3390/nu15020381>>

Principais resultados: Observou-se excesso de peso em 34%, RCE elevada em 9% e hipertrigliceridemia em 17% dos indivíduos avaliados, sendo esses achados mais expressivos entre os estudantes da zona urbana (45%, $p = 0,011$; 15%, $p = 0,015$; 24%, $p = 0,026$, respectivamente). O consumo de alimentos ultraprocessados representou 21% da ingestão calórica total no dia anterior à entrevista e apresentou correlação positiva com a ingestão de ácidos graxos *trans* ($r = 0,70$) e açúcar ($r = 0,59$). O consumo de alimentos não processados mostrou uma correlação fraca, porém significativa, com o IMC ($r = 0,22$) e a CC ($r = 0,23$), enquanto o consumo de carne processada mostrou correlação negativa com os níveis séricos de ferritina ($r = -0,16$) e vitaminas D ($r = -0,20$) e B12 ($r = -0,15$). Esses achados chamam atenção para a necessidade de políticas públicas locais que promovam SAN para a população em idade escolar no intuito de prevenir não somente DCNT, mas também deficiências nutricionais.

Article

Ultra-Processed Food Consumption Is Related to Higher Trans Fatty Acids, Sugar Intake, and Micronutrient-Impaired Status in Schoolchildren of Bahia, Brazil

Camilla Almeida Menezes ¹, Leticia Bastos Magalhães ¹, Jacqueline Tereza da Silva ², Renata Maria Rabello da Silva Lago ³, Alexvon Nunes Gomes ³, Ana Marice Teixeira Ladeia ³, Nelzair Araújo Vianna ¹ and Ricardo Riccio Oliveira ^{1,*}

¹ Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, Salvador 40296-710, Brazil

² Global Academy of Agriculture and Food Systems, The University of Edinburgh, Edinburgh EH8 9YL, UK

³ Bahiana School of Medicine and Public Health, Salvador 40290-000, Brazil

* Correspondence: ricardo.riccio@fiocruz.br; Tel.: +55-71-3176-2347 or +55-71-3176-2266

Abstract: Ultra-processed food (UPF) consumption impacts nutrient intake and plays an important role in non-communicable diseases (NCD), even among schoolchildren. This cross-sectional study aimed to characterize the food consumption of this population and its relationship with laboratory and anthropometric aspects. A sample of 190 subjects aged 5 to 19 y was randomly selected for dietary, laboratory, and anthropometric assessment. Statistical inference was calculated using Spearman's correlation. Excess weight was observed in 34%, a high Waist-to-Height Ratio in 9%, and hypertriglyceridemia in 17% of the subjects, higher among those from urban schools (45%, $p = 0.011$; 15%, $p = 0.015$; 24%, $p = 0.026$, respectively). UPF consumption represented 21% of caloric intake and showed a positive correlation with *trans* fatty acids ($r = 0.70$) and sugar ($r = 0.59$) intake. Unprocessed food consumption showed a weak, but significant, correlation with Body Mass Index ($r = 0.22$) and Waist Circumference ($r = 0.23$), while processed meat showed a negative correlation with serum ferritin ($r = -0.16$) and vitamins D ($r = -0.20$) and B₁₂ ($r = -0.15$). These findings highlight the need for public policies to promote Food and Nutritional Security for schoolchildren to prevent NCD and nutritional deficiencies.

Keywords: nutrition; diet quality; food consumption; ultra-processed food; nutritional status; school-age population



Citation: Menezes, C.A.; Magalhães, L.B.; da Silva, J.T.; da Silva Lago, R.M.R.; Gomes, A.N.; Ladeia, A.M.T.; Vianna, N.A.; Oliveira, R.R. Ultra-Processed Food Consumption Is Related to Higher Trans Fatty Acids, Sugar Intake, and Micronutrient-Impaired Status in Schoolchildren of Bahia, Brazil. *Nutrients* **2023**, *15*, 381. <https://doi.org/10.3390/nu15020381>

Academic Editor: Zhiyong Zou

Received: 23 November 2022

Revised: 29 December 2022

Accepted: 5 January 2023

Published: 12 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Brazil follows the global trend of reducing thinness and increasing overweight and obesity prevalence in the school-age population, currently recognized as a public health problem [1]. The National School Health Survey [2] and the Surveillance System for Risk and Protection Factors for Chronic Diseases by Telephone Survey [3] revealed that overweight increased by 239% in the last 20 years, with 15% of Brazilians between 6 and 18 years old diagnosed with overweight and 5% with obesity. The Study of Cardiovascular Risks in Adolescents also pointed to a growing prevalence of comorbidities such as hypercholesterolemia (20.1%), systemic arterial hypertension (9.6%), and metabolic syndrome (2.6%) among Brazilians aged 12 to 17 years, although nutritional deficiencies are still considered public health problems in this population [4].

Chronic Non-Communicable Diseases (NCDs) can develop because of multiple causes, with an unhealthy diet being one of the main modifiable risk factors. Although clinical manifestations are more frequently observed in adulthood, exposure to risk factors has been occurring at an increasingly early age [5]. The Brazilian population reveals a growing tendency to replace basic foods, such as rice, beans, fruits, vegetables, meat, and milk, with industrialized beverages and foods, such as cookies, processed meats, ready-to-eat foods,

sugar, and salt. Analysis by age group shows that fruit and vegetable consumption is lower among adolescents compared to adults and the elderly. On the other hand, ultra-processed food (UPF) consumption is higher in adolescents [6].

UPFs are industrial formulations entirely or mostly made up of substances extracted from food, derived from food constituents, and/or synthesized in laboratories from organic materials [7]. Recent literature has shown that this group of foods has a negative impact on the quality of the population's diet due to several factors, negatively influencing nutrient intake [8]. The increased consumption of UPF is associated with the risk of metabolic syndrome in adolescents and dyslipidemia in children [9]. According to the Food Guide for the Brazilian Population, the consumption of these foods should be avoided and should not contribute to the achievement of daily nutritional needs [10]. Despite this, UPFs are increasingly present in the eating habits of the population, especially children [11].

Therefore, the present cross-sectional study aims to describe the characteristics of food consumption in terms of processing level and nutrient intake, anthropometric measurements and serum concentrations of ferritin, hemoglobin, components of lipid profile, blood glucose, and vitamins D and B₁₂ of students from rural and urban public schools in Bahia, Brazil. These results will contribute to the knowledge of the health conditions of the school-age population at the local level and may guide the implementation and realignment of public policies on Food and Nutrition Security for the public.

2. Materials and Methods

2.1. Population

Students from the cities of Barrocas, Biritinga, Serrinha, Teofilândia, and Valente, in the northeast of Bahia, Brazil, regularly enrolled in the municipal public school system in the years 2019 and 2020, including rural and urban areas, were invited to participate. Individuals aged between 5 and 19 years were considered eligible, excluding those with a previous diagnosis of food allergies and intolerances, resulting in a sample of 190 randomly selected individuals (95% CI, estimated overweight proportion of 15%, desired accuracy of 5%).

2.2. Data Collection

Clinical demographic, dietary, laboratory, and anthropometric information were included. Data collection took place between 2019 and 2020 and was carried out by a trained team, in the morning, at the school in which the individuals were regularly enrolled.

2.2.1. Clinical Demographic Assessment

A face-to-face interview was carried out, guided by a previously structured questionnaire containing questions about the individual's clinical history, to be answered by the legal guardian. In addition to identification data, the questions included type of delivery, presence and duration of exclusive breastfeeding, disease history, family history, and medication use.

2.2.2. Food Consumption Assessment

The validated 24 h recall instrument was used, which is based on the identification and quantification of all foods ingested on the day before the interview. A photographic album of food portions was used to help fill in the information and more accurately determine the portioning of consumed food [12]. For the energy and nutritional intake assessment, the Brazilian Food Composition Table [13] and the Centesimal Food Composition Table of the Brazilian Institute of Geography and Statistics [14] were used. Energy, protein, carbohydrate, total fat, fiber, and iron intake were assessed because of the requirements of the National School Feeding Program. Although not required, the assessment of saturated fatty acids, *trans* fatty acids, cholesterol, sugar, and sodium intake was included, because of its impact on the metabolic and nutritional status. The assessment of vitamins B₁₂ and D intake was included because they are also considered important nutrients for children's

cognitive and structural development. For qualitative evaluation, the NOVA classification was used, classifying unprocessed food as Group 1 (i.e., cereals, legumes, vegetables, fruits, meat, eggs, dairy), processed culinary ingredients as Group 2 (i.e., sugar, salt, oil), processed food as Group 3 (i.e., canned beans, vegetables, and fish, processed meat, fruit jelly), and ultra-processed food as Group 4 (i.e., sausages, soft drinks, ice cream, snacks) [10].

2.2.3. Laboratory Evaluation

Blood samples were collected in fasting, by a specialized technical team, and analyzed by the local Central Public Health Laboratory and by local private laboratories under the support and responsibility of the Health Department of the municipalities involved. The following indicators were evaluated: full blood count, fasting blood glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, ferritin, vitamin B₁₂, and vitamin D (25-OH-vitamin D3). The following reference values for laboratory parameters were considered: low hemoglobin (girls aged 5 to 12 y < 11.5 g/dL, girls aged 12 to 19 y < 12 g/dL, boys < 13 g/dL); low ferritin (<15 µg/L); high fasting glucose (≥100 mg/dL); high total cholesterol (≥200 mg/dL); high LDL cholesterol (≥130 mg/dL); high triglycerides (5 to 10 y ≥ 100 mg/dL, 11 to 19 y ≥ 150 mg/dL); vitamin B₁₂ deficiency (<200 pg/mL); vitamin D deficiency (<20 ng/mL).

2.2.4. Anthropometric Evaluation

Nutritional status was classified using the Body Mass Index (BMI) for Age (BMI/A). With the individual wearing their school uniform, weight was measured using a digital electronic scale (Seca[®], Hamburg, Germany) with a maximum capacity of 150 kg and an accuracy of 0.1 kg. Height was measured with the student not wearing shoes, using a portable vertical stadiometer (AVA-312[®], Brazil) graduated in centimeters, with a maximum capacity of 2.10 m and accuracy of 0.001 m. BMI was calculated using the Quetelet formula (weight in kg/height in meters²) and BMI/A was classified according to the World Health Organization child growth curves [15]. Waist Circumference (WC) was assessed with an inelastic measuring tape (Balmak[®], Riverwood, Brazil) with a measurement range from 0 to 150 cm and graduated in millimeters, and classified according to the curves proposed by Fernandez [16]. Waist-to-Height Ratio (WHtR) was calculated as proposed by McCarthy and Ashwell [17] and validated for children and adolescents by Nambiar et al. [18] to suggest cardiovascular risk (when ≥0.5). The Hypertriglyceridemic Waist Phenotype (HWP) was also investigated and considered to be present in the simultaneous occurrence of WC greater than adequate for sex and age, and hypertriglyceridemia [19].

2.3. Statistical Analysis

To characterize the sample, a descriptive analysis was performed. After verifying the normality behavior of the numerical variables, using the Kolmogorov–Smirnov and Shapiro–Wilk tests, measures of central tendency and dispersion were established, considering the means and their respective Standard Deviation (SD) for the parametric variables, and the medians and their interquartile ranges (IR) for the non-parametric ones. To compare these measures, the Student's *t*-test was used for parametric variables, the Mann–Whitney test for non-parametric variables, and the Kruskal–Wallis test for two or more non-parametric variables. Categorical variables were compared using Pearson's chi-square test, and, when appropriate, Fisher's exact test. Inferential statistics were performed using Pearson's correlation coefficient for parametric variables, and Spearman correlation coefficient for non-parametric ones. *p* values lower than 0.05 were considered significant.

3. Results

3.1. Clinical Demographic Assessment

Most of the sample was concentrated in the cities of Serrinha (35%) and Valente (34%), was studying in schools located in rural areas (57%) and was male (52%). The mean age was 9.6 years (SD 2.8 y). There was no statistically significant difference in terms of gender

and age between rural and urban school locations. Most of the population was born via vaginal delivery (64%), more pronounced in the rural population (71%; $p = 0.022$). The presence of breastfeeding was reported in 92% of the individuals, being exclusive until the sixth month of life for 58% of them. Most of the sample reported having been exposed to antibiotic therapy before 5 years of age (73%).

3.2. Food Consumption Assessment

Table 1 presents the quantitative and qualitative aspects of the diet. Both added sugar and total sugar (naturally contained in foods, in addition to that added in preparations) consumptions were higher in the urban population, with total sugar representing 24% ($p < 0.001$) and added sugar 16% ($p = 0.002$) of total energy intake in the day before the interview. The consumption of added sodium and total sodium (naturally present in foods, in addition to that added in preparations) was higher among individuals who studied in rural schools (434 mg/1000 Kcal, $p = 0.013$; and 1639 mg/1000 Kcal, $p = 0.007$, respectively). In terms of fiber, consumption was lower in the urban population (7.2 g/1000 Kcal, $p = 0.014$). The saturated fatty acids (SFAs) and total sugar consumption exceeded the recommendation of 10% of total daily calories [20,21] in part of the evaluated individuals, regardless of the location of the population. In the qualitative aspect, it was observed that 48% of the calories consumed the day before the dietary assessment came from unprocessed foods, and 21% from ultra-processed foods (UPFs). The consumption of UPFs was more highly expressed in the urban population than in the rural population (18% vs. 23%, $p = 0.039$).

Table 1. Quantitative and qualitative nutritional characteristics of food consumption of the participants according to the school location.

Indicators	Total ¹ (n = 185)	Rural ¹ (n = 108)	Urban ¹ (n = 77)	p ²
Energy and Macronutrients				
Energy (calories)	1763 (1317–2284)	1762 (1350–2315)	1765 (1313–2115)	>0.900
Protein (caloric%)	14 (11–16)	14 (11–16)	13 (11–15)	0.500
Carbohydrate (caloric%)	53 (46–60)	52 (45–59)	55 (48–61)	0.057
Total fat (caloric%)	33 (28–40)	34 (29–41)	32 (27–37)	0.056
SFAs (caloric%)	11 (9–14)	11 (9–14)	11 (9–13)	0.200
Trans FAs (caloric%)	1.26 (0.94–1.81)	1.22 (0.93–1.73)	1.31 (0.95–1.91)	0.400
Cholesterol (mg/1000 Kcal)	86 (61–149)	90 (62–143)	81 (57–163)	0.700
Total sugar (caloric%)	20 (12–28)	16 (10–24)	24 (15–31)	<0.001
Added sugar (caloric%)	13 (6–18)	11 (5–17)	16 (9–22)	0.002
Fiber (g/1000 Kcal)	7.6 (6.3–9.0)	7.9 (6.8–9.1)	7.2 (5.6–8.7)	0.014
Micronutrients				
Total sodium (mg/1000 Kcal)	1601 (1316–1953)	1639 (1365–2170)	1516 (1173–1777)	0.007
Added sodium (mg/1000 Kcal)	395 (252–559)	434 (260–597)	364 (244–467)	0.013
Iron (mg/1000 Kcal)	4.80 (3.95–5.65)	4.88 (3.98–5.72)	4.55 (3.89–5.64)	0.400
Vitamin B ₁₂ (μg/1000 Kcal)	1.75 (1.03–2.76)	1.79 (1.01–2.56)	1.63 (1.04–2.86)	>0.900
Vitamin D (mg/1000 Kcal)	1.59 (0.96–2.36)	1.59 (0.94–2.13)	1.63 (1.05–2.41)	0.400
NOVA classification				
Group 1 (caloric%)	48 (38–61)	49 (39–65)	47 (38–56)	0.400
Group 2 (caloric%)	13 (9–18)	13 (9–20)	13 (8–16)	0.300
Group 3 (caloric%)	10 (0–20)	10 (1–19)	10 (0–20)	>0.900
Group 4 (caloric%)	21 (11–36)	18 (7–35)	23 (16–36)	0.039

¹ Median (interquartile range); ² Mann–Whitney test. *p* values in bold indicate statistically significant differences (<0.05). SFAs (Saturated Fatty Acids); Trans FAs (Trans Fatty Acids); NOVA—Group 1 (unprocessed foods); Group 2 (processed culinary ingredients); Group 3 (processed foods); Group 4 (ultra-processed foods).

Figure 1 shows the correlation between NOVA food groups and nutrient intake. The consumption of unprocessed foods showed a moderate positive correlation with fiber ($r = 0.67$) and SFAs ($r = 0.53$) intake. The consumption of processed culinary ingredients was moderately positively related to fiber ($r = 0.44$) and saturated fat ($r = 0.59$) intake. The

consumption of UPFs showed a moderate positive correlation with sugar intake ($r = 0.59$) and a strong correlation with *trans* FAs intake ($r = 0.70$).

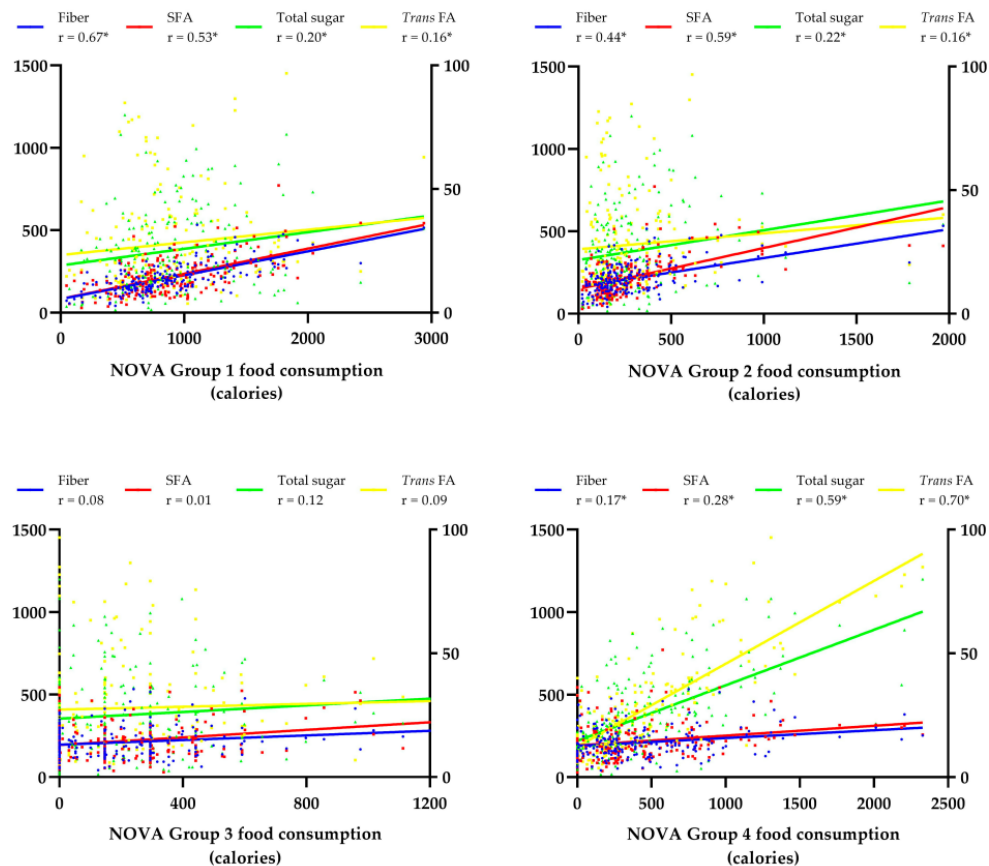


Figure 1. Correlation between food consumption according to levels of processing and macro- and micronutrient intake. Statistical test: Spearman correlation. * Statistically significant differences ($p < 0.05$). Left Y-axis: Fiber (g); SFAs—Saturated Fatty Acids (calories); total sugar (calories). Right Y-axis: *Trans* FAs—*Trans* Fatty Acids (calories). NOVA—Group 1 (unprocessed food); Group 2 (processed culinary ingredients); Group 3 (processed food); Group 4 (ultra-processed food). Spearman r classification—very weak (0.00 to 0.19); weak (0.20 to 0.39); moderate (0.40 to 0.69); strong (0.70 to 0.89); very strong (0.90 to 1.00).

Figure 2 shows the relative contribution of specific food groups to unprocessed, processed, and ultra-processed food consumption. Among unprocessed foods, most of the caloric contribution came from cereals (28%), such as rice, and meat (27%), especially red meat. Most of the processed culinary ingredients' energy came from vegetable oils (62%), such as soy oil. Among processed foods, starchy foods contributed the most (93% of calories in this group), as well as in UPFs (71% of calories), especially bread, followed by sweetened beverages (11%), such as soda, and meat (9%), such as ham and sausage.

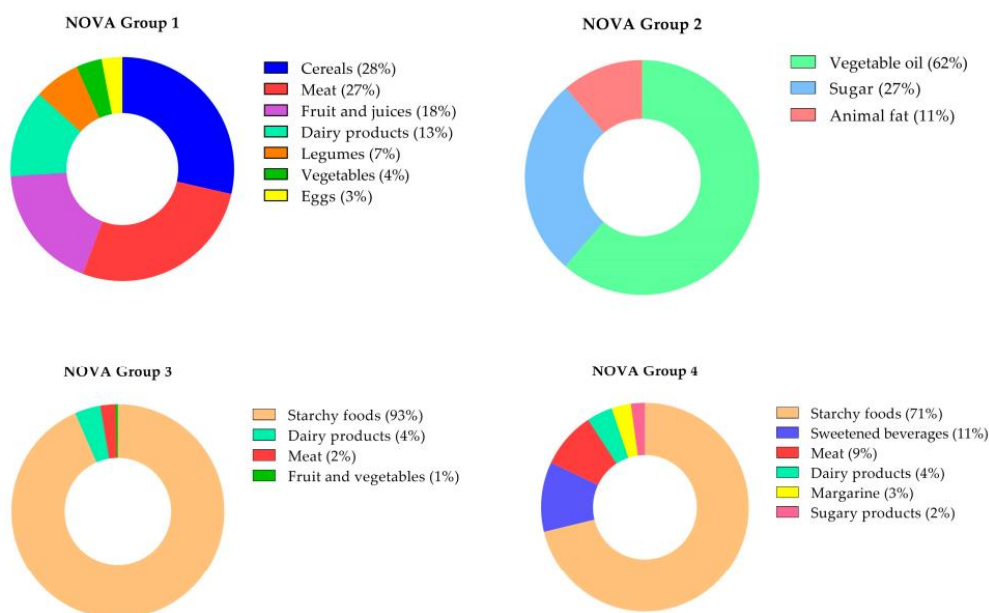


Figure 2. Relative contribution (%) of each food group to unprocessed, processed, and ultra-processed food consumption. NOVA Group 1 (unprocessed food); NOVA Group 2 (processed culinary ingredients); NOVA Group 3 (processed food); NOVA Group 4 (ultra-processed food).

3.3. Laboratory Analyses

Laboratory data were presented in two ways, first as a continuous variable (Figure 3) and later as a categorized one, to investigate the inadequacy prevalence of the interest parameters (Table 2). Both analyses aimed to investigate differences between the rural and urban populations.

Table 2. Absolute and relative frequencies of laboratory inadequacies in school children in rural and urban areas.

Indicators	Total ¹ (n = 190)	Rural ¹ (n = 109)	Urban ¹ (n = 81)	p
Low hemoglobin	15 (8%)	10 (10%)	5 (6%)	0.433 ²
High fasting glucose	11 (6%)	6 (6%)	5 (6%)	0.733 ²
High total cholesterol	22 (12%)	11 (10%)	11 (14%)	0.768 ³
High LDL cholesterol	14 (7%)	8 (8%)	6 (7,5%)	0.443 ³
High triglycerides	31 (17%)	12 (11%)	19 (24%)	0.026 ³
Low ferritin	8 (5%)	4 (5%)	4 (5%)	0.940 ²
Vitamin B ₁₂ deficiency	25 (14%)	14 (13%)	11 (14%)	0.908 ³
Vitamin D deficiency	1 (1%)	0 (0%)	1 (1%)	0.391 ²

¹ n (%); ² Fisher's exact test; ³ Pearson's chi-squared test. p values in bold indicate statistically significant differences (<0.05). Reference values for laboratory parameters: low hemoglobin (girls aged 5 to 12 y < 11.5 g/dL, girls aged 12 to 19 y < 12 g/dL, boys < 13 g/dL); low ferritin (<15 µg/L); high fasting glucose (≥100 mg/dL); high total cholesterol (≥200 mg/dL); high LDL cholesterol (≥130 mg/dL); high triglycerides (5 to 10 y ≥ 100 mg/dL, 11 to 19 y ≥ 150 mg/dL); vitamin B₁₂ deficiency (<200 pg/mL); vitamin D deficiency (<20 ng/mL).

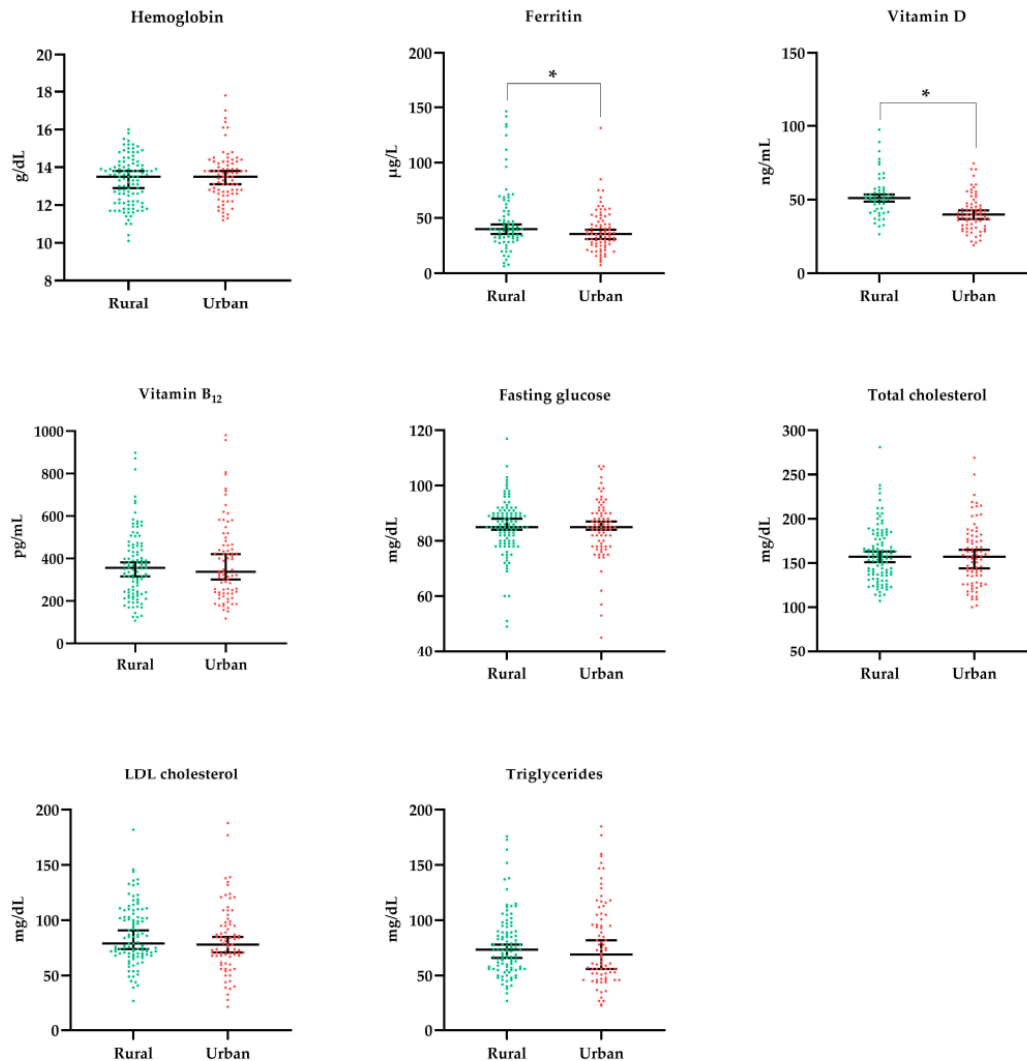


Figure 3. Laboratory characteristics of the participants according to school location. Statistical test: Mann–Whitney. * Statistically significant differences ($p < 0.05$).

The ferritin level was lower among individuals in urban schools ($p = 0.022$), which did not imply a higher prevalence of iron deficiency in this population given that the categorized data show a 5% prevalence in both groups. The same occurred with vitamin D, in which serum levels were lower in the urban population ($p < 0.001$), but the difference in the prevalence of vitamin D deficiency was not statistically significant when compared to the rural population. Another aspect that draws attention is the high prevalence of hypertriglyceridemia (17%), which was even more expressive in the urban population (24%, $p = 0.026$). Despite the omnivorous dietary pattern of the population, a high prevalence of vitamin B₁₂ deficiency was observed (14%), a nutrient found in animal food sources. All individuals diagnosed with vitamin B₁₂ deficiency ($n = 25$) were instructed to undergo drug replacement of this nutrient.

3.4. Anthropometric Evaluation

The rural population showed a lower BMI than the urban population ($p = 0.001$, Table 3), which also reflects a higher prevalence of underweight in rural areas when those severely underweight and underweight were placed together ($p = 0.011$). Almost half (45%) of the urban students were classified as overweight, obese, or severely obese, against 24% of prevalence among rural students ($p = 0.011$). Equally relevant are Waist Circumference (WC) and Waist-to-Height Ratio (WHtR) data, which were significantly higher in the urban population ($p = 0.029$), and resulted in a higher prevalence of cardiovascular risk in these individuals ($p = 0.015$).

Table 3. Anthropometric characteristics of the participants according to school location.

Indicators	Total ¹ (n = 190)	Rural ¹ (n = 109)	Urban ¹ (n = 81)	p
Height (m)	1.39 (1.26–1.53)	1.38 (1.26–1.51)	1.41 (1.27–1.55)	0.600 ²
Weight (Kg)	33 (25–45)	30 (25–43)	37 (26–48)	0.054 ²
Body Mass Index (Kg/m ²)	17.0 (15.0–19.5)	16.0 (14.8–18.8)	18.0 (15.9–20.8)	0.001 ²
Nutritional status				
Severe underweight	2 (1%)	2 (2%)	0 (0%)	0.011 ³
Underweight	8 (4%)	5 (5%)	3 (4%)	
Eutrophy	113 (61%)	73 (69%)	40 (51%)	
Overweight	32 (17%)	15 (14%)	17 (21%)	
Obesity	12 (7%)	2 (2%)	10 (12%)	
Severe obesity	19 (10%)	9 (8%)	10 (12%)	
Waist circumference (cm)	59 (54–67)	57 (54–66)	61 (55–70)	0.029 ²
Waist-to-Height Ratio	0.43 (0.40–0.46)	0.43 (0.40–0.45)	0.44 (0.41–0.47)	0.029 ²
Cardiovascular risk	17 (9%)	5 (5%)	12 (15%)	0.015 ⁴
Hypertriglyceridemic waist	6 (3%)	1 (1%)	5 (6%)	0.085 ³

¹ Median (interquartile range) or n (%); ² Mann–Whitney test; ³ Fisher’s exact test; ⁴ Pearson’s chi-squared test. *p* values in bold indicate statistically significant differences (<0.05). Nutritional status was classified according to Body Mass Index for Age. Cardiovascular risk was classified according to the Waist-to-Height Ratio, being considered a present risk when ≥ 0.5 . The hypertriglyceridemic waist phenotype was considered present in the simultaneous occurrence of waist circumference greater than appropriate for sex and age, and hypertriglyceridemia (5 to 10 y ≥ 100 mg/dL; 11 to 19 y, elevated ≥ 150 mg/dL).

3.5. Food Consumption and Nutritional Status Correlation

All tested correlations between food consumption or nutrient intake, and laboratory and anthropometric indicators, proved to be weak or very weak (Figure 4). Those with statistical significance were related to the serum status of nutrients (ferritin, vitamin B₁₂, and vitamin D) and the anthropometric indicators BMI, WC, and WHtR. Ferritin levels were positively related to unprocessed meat consumption, but negatively related to the consumption of processed meats, as well as the intake of carbohydrates, total sugar, *trans* FAs, unprocessed fruits and juices, and UPFs in general. Processed meat consumption was also negatively related to vitamin D and B₁₂ serum levels. Vitamin D status showed a positive correlation with fiber intake and unprocessed vegetable consumption. Vitamin B₁₂ status showed a positive relationship with protein intake, unprocessed meat, and unprocessed food consumption. BMI was directly related to energy and unprocessed food intake. WC showed a positive correlation with several of the evaluated parameters, especially with sodium intake, unprocessed foods, and processed culinary ingredients consumption. The WHtR was directly related to unprocessed fruit and juice consumption.

	FER	FG	T-Chol	LDL-C	TG	Vit-D	Vit-B ₁₂	BMI	WC	WHtR
Energy	-0.13	0.09	-0.08	-0.07	0.06	0.12	0.09	0.15	0.18	0.00
Protein	0.07	0.07	-0.01	-0.01	0.07	0.07	0.16	0.13	0.16	-0.06
Carbohydrate	-0.21	0.08	-0.09	-0.11	0.01	0.08	0.02	0.12	0.15	0.02
Total fat	-0.08	0.04	-0.03	0.00	0.09	0.15	0.05	0.12	0.17	-0.02
Cholesterol	0.11	-0.02	0.02	0.01	0.07	0.06	0.14	0.13	0.12	-0.01
SFAs	-0.03	0.05	-0.04	-0.02	0.12	0.10	0.07	0.09	0.14	-0.02
Trans FAs	-0.17	0.06	-0.01	-0.03	0.09	0.06	-0.01	0.01	0.06	-0.03
Fiber	-0.06	0.04	-0.06	-0.04	-0.02	0.20	-0.02	0.07	0.11	0.04
Total sugar	-0.30	0.06	0.03	-0.05	0.05	-0.04	0.01	0.01	-0.03	0.09
Total sodium	0.02	0.02	0.01	0.07	0.06	0.14	-0.03	0.09	0.16	-0.01
Vitamin B ₁₂	0.10	0.09	0.07	0.07	0.07	-0.01	0.09	0.05	0.04	-0.09
Vitamin D	0.06	0.05	-0.08	-0.12	0.12	0.07	0.11	0.04	0.03	-0.07
NOVA Group 1	0.11	0.03	-0.04	-0.01	0.00	0.16	0.17	0.22	0.23	0.05
NOVA Group 2	-0.01	0.12	0.01	0.02	0.05	0.17	0.02	0.13	0.17	0.01
NOVA Group 3	-0.01	0.03	-0.10	-0.11	0.03	0.07	-0.02	0.05	0.07	0.02
NOVA Group 4	-0.30	-0.01	0.05	0.00	0.06	-0.14	-0.07	-0.07	-0.06	0.00
Unprocessed fruits	-0.21	-0.04	-0.07	-0.08	0.00	-0.09	-0.02	0.07	0.05	0.21
Unprocessed vegetables	0.19	0.02	-0.04	0.07	-0.07	0.21	-0.01	0.06	0.08	0.08
Unprocessed meat	0.20	0.04	0.05	0.03	0.06	0.10	0.23	0.10	0.07	-0.05
Processed meat	-0.16	-0.13	-0.10	-0.10	0.00	-0.20	-0.15	-0.05	0.00	0.00

Spearman correlation coefficient classification (r value)

-1.00	-0.89	-0.69	-0.39	-0.19	0.01	0.20	0.40	0.70	0.90	
to	to	to	to	to	to	to	to	to	to	
-0.90	-0.70	-0.40	-0.20	-0.01	0.19	0.39	0.69	0.89	1.00	
Very strong	Strong	Moderate	Weak	Very weak	None	Very weak	Weak	Moderate	Strong	Very strong

Figure 4. Food consumption or nutrient intake and nutritional status correlation heatmap. Statistical test: Spearman correlation. The r values in bold indicate statistically significant differences ($p < 0.05$). FER (ferritin), FG (fasting glucose), T-Chol (total cholesterol), LDL-C (LDL cholesterol), TG (triglycerides), Vit-D (Vitamin D), Vit-B₁₂ (Vitamin B₁₂), BMI (Body Mass Index), WC (Waist Circumference), WHtR (Waist-to-Height Ratio), SFAs (Saturated Fatty Acids), Trans FAs (Trans Fatty Acids), NOVA Group 1 (unprocessed foods), NOVA Group 2 (processed culinary ingredients), NOVA Group 3 (processed foods), NOVA Group 4 (ultra-processed foods). Measurement units: fiber (g), cholesterol and total sodium (mg), vitamins B₁₂ and D (μg), and the others (calories).

4. Discussion

The energy and nutritional intake assessment revealed a high intake of sugar, with this profile being even more highly expressed in the urban population. Sodium consumption was higher among rural students. Regardless of the school location, a high consumption of saturated fat was observed in part of the evaluated individuals. This profile of food consumption was also observed by the Study of Cardiovascular Risks in Adolescents, in 2016, among students from public and private schools across the country [22].

The qualitative assessment of food consumption revealed that almost half of the energy consumed came from unprocessed foods. However, 21% of the calories were provided by UPFs, with greater consumption of UPFs in the urban area. A study carried out in 2013, with 816 preschool-aged individuals in public Early Childhood Centers in Paraná, Brazil, identified that UPFs represented 45.8% of total daily caloric intake [23]. A survey carried out with 50 adolescents from a private school in Minas Gerais, Brazil, identified that 84.6% of them allocated half of the financial resources of their purchases to UPFs [24]. Another study, carried out with data from the 2015 National School Health Survey, which was multicentric and included public and private schools, revealed that adolescents from higher socioeconomic levels consumed more unprocessed foods, but also UPFs when compared to those from lower socioeconomic levels [25]. These results demonstrate that

UPF consumption is significantly present in the diet of the Brazilian school-age population, regardless of social, economic, and geographical issues.

UPFs are industrial formulations entirely or mostly made up of substances extracted from food (oils, fats, sugar, proteins), derived from food constituents (hydrogenated fats, modified starch), and/or synthesized in a laboratory from raw materials and organic ingredients (colorants, flavorings, sweeteners, flavor enhancers). The recent literature has shown that this food group has a negative impact on the quality of the population's diet due to several factors, including negatively influencing the supply of nutrients. UPFs contribute to increasing energy density, sugar, and fat levels (saturated and *trans*), and to reducing the fiber content of the diet [8]. This was the nutritional profile found in the present study. The greater the UPF consumption, the greater the sugar and *trans* fatty acid intake, probably due to the greater caloric participation of starchy foods, sweetened beverages, and ultra-processed meat. According to the Dietary Guidelines for the Brazilian Population, the consumption of these foods should be avoided and should not contribute to the achievement of daily nutritional needs [26].

Regarding the assessment of nutritional deficiencies, differences were observed between the students of rural and urban schools. Serum ferritin levels were lower in urban students, although this did not represent a higher prevalence of this nutrient deficiency or anemia in this population. Likewise, blood levels of vitamin D were lower in these urban students, probably reflecting the level of sun exposure of this population, which tends to be lower when compared to the rural population, given that the status of this vitamin in the body is more related to endogenous synthesis than to food intake. In any case, the prevalence of vitamin D deficiency was not relevant in the population evaluated in this study.

Although foods of animal origin are considered the best sources of iron in the diet, due to the presence of easily absorbed heme iron, it is known that plant-based diets are equally effective in maintaining iron status in the body [27]. In this study, a direct correlation was observed between unprocessed meat and vegetable consumption and serum ferritin levels, which did not occur with processed meat consumption and UPFs in general. This inverse correlation of processed meat consumption also occurred with serum levels of vitamin D, which showed a positive correlation with fiber consumption.

Regarding vitamin B₁₂, although no difference in serum levels was observed between rural and urban populations, the fact that the prevalence of this nutritional deficiency was considerably higher than that of iron is noteworthy. Iron deficiency, as well as iron deficiency anemia, is still considered a public health issue both globally and among the Brazilian population. For this reason, more than two decades ago, Brazil introduced public policies for mass iron fortification, through wheat and corn flour, to reduce the prevalence of iron deficiency and anemia in the population [28]. However, vitamin B₁₂ deficiency also has a great impact on the growth and structural and cognitive development of children and adolescents. The prevalence of this nutritional deficiency is increasing in the world, especially among parts of the population with lower socioeconomic status, children, pregnant women, and the elderly [29]. In this study, a direct correlation was observed between unprocessed meat consumption and vitamin B₁₂ status, but the opposite occurred with processed meat consumption.

There is no consensus regarding the ideal serum levels of vitamin B₁₂, which makes it difficult to determine the prevalence of this nutrient deficiency at a population level and to compare studies. In this research, individuals with vitamin B₁₂ levels below 200 pg/mL were considered deficient. If a cutoff point above 300 pg/mL or 500 pg/mL had been adopted as sufficient, as suggested by other authors, the prevalence of nutritional deficiency would have been even more expressive [30,31]. The consumption of processed meat is a risk factor for the development of cancer in humans, classified as group 1 alongside cigarettes, solar radiation, and alcohol intake, according to sufficient scientific evidence. The consumption of unprocessed meat was classified as a probable carcinogen in humans, being part of group 2A, as well as acrylamide and the pesticide dichlorodiphenyltrichloroethane [32].

These findings suggest the need for policies to combat vitamin B₁₂ deficiency, in addition to recommending the intake of animal protein.

There was also a statistically significant difference between the studied individuals in terms of lipid profile. Hypertriglyceridemia was more prevalent in urban students, where higher UPF and sugar consumption and lower fiber intake were also found. Regardless of this difference, the prevalence of hypertriglyceridemia and high-LDL cholesterol were higher than the national standard observed by the Study of Cardiovascular Risks in Adolescents. The study also showed a higher prevalence of hypertriglyceridemia in the northeast population when compared to the rest of the country [33], and that the national prevalence of metabolic syndrome (2.6%) was higher among public school students (2.8%) [34]. These data suggest a negative evolution of the lipid and metabolic profile of the Brazilian school-age population in recent years and demonstrate the need to implement public policies to address this scenario.

The National Health Survey, considering data from 1974 to 2018, confirms the Brazilian population's global trend of the increasing prevalence of overweight and obesity, including among children [6]. It is estimated that 15% of Brazilians between 6 and 18 years were diagnosed as overweight and 5% as obese [2,3]. In this study, as expected, the consumption of total calories showed a positive correlation with BMI. However, among the analyzed NOVA food groups, the unprocessed foods showed a positive relationship with BMI. This may be explained by the higher caloric share of cereals and meat in this group. The prevalence of overweight was 17%, as well as obesity (obesity and severe obesity added together), demonstrating that 34% of the individuals were overweight. The prevalence of overweight and obesity was higher among students from urban schools.

Sodium intake, unprocessed foods, and processed culinary ingredient consumption showed a positive correlation with Waist Circumference (WC), probably because the most consumed foods in these groups, in terms of caloric share, were cereals, meat, oil, and sugar. The Waist-to-High Ratio (WHtR), on the other hand, showed a positive correlation with unprocessed fruit and juice consumption, probably due to the presence of added sugar, since these foods represented 18% of the energy consumed in group 1, and fresh fruits, in general, have low energy density. The urban population also presented higher WC and WHtR when compared to rural students, which resulted in a higher prevalence of cardiovascular risk in these individuals.

In brief, it was observed that unprocessed food consumption was positively related to anthropometric outcomes, while UPF consumption was positively related to micronutrient-impaired status. Almost half of the total energy consumed came from unprocessed food (48%), which was positively related to saturated fatty acids intake, and in which cereals and meat represented the most relative energy contribution. This may explain the correlations with the anthropometric findings. Conversely, 21% of total calorie intake came from UPF, which was most positively related to *trans* fatty acids intake, in which starchy food had the most relative energy contribution. This may explain the fact that, in this population, this food pattern is more related to lower micronutrient intake than to excess calorie consumption. It is suggested that further studies investigate the influence of physical activity on these findings.

An important aspect that needs to be discussed is that the assessment of food consumption presented in this study was performed using a single 24 h dietary recall. However, the instrument must be applied at three different, non-consecutive moments, representing two typical days and an atypical day of food consumption [35]. In the present study, due to logistical issues, it was not possible to apply the method in triplicate. Consequently, the presented data represent food consumption on the day before the interview, not the usual pattern of consumption, and the interpretations derived from these findings should be made taking this limitation into account. In any case, this study sheds light on important aspects of the nutritional and health conditions of a hitherto unassessed population.

5. Conclusions

In this study, the prevalence of overweight, cardiovascular risk, hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, and vitamin B₁₂ deficiency appeared to be more highly expressed than as described by previous studies about the Brazilian school-age population. Likewise, higher consumption of UPFs has a positive correlation with nutritional inadequacies, such as high sugar and *trans* fatty intakes and micronutrient deficiency. These findings draw attention to the need to promote local public policies aimed at promoting food and nutritional security for the school-age population to prevent both the emergence and worsening of Chronic Non-Communicable Diseases and nutritional deficiencies.

Author Contributions: Conceptualization, C.A.M., A.M.T.L., N.A.V. and R.R.O.; data curation, C.A.M. and L.B.M.; formal analysis, C.A.M. and J.T.d.S.; investigation, C.A.M. and L.B.M.; methodology, A.M.T.L., N.A.V. and R.R.O.; project administration, A.M.T.L., N.A.V. and R.R.O.; supervision, A.M.T.L., N.A.V. and R.R.O.; visualization, C.A.M.; writing—original draft, C.A.M.; writing—review and editing, R.M.R.d.S.L. and A.N.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The first author of this study receives a research grant for a doctorate from the Bahia State Research Support Foundation.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee for Research on Human Beings of the Bahiana School of Medicine and Public Health (protocol code: 2.962.623) on 17 September 2018.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data used to support the results presented in this article can be found at Harvard Dataset (<https://doi.org/10.7910/DVN/OUWFBX>). Accessed on 10 January 2023.

Acknowledgments: Special thanks are extended to the Public Ministry of Bahia and the Health and Education Departments of the municipalities involved for enabling the logistics of data collection, as well as the nutritionists responsible for the National School Feeding Program in the municipalities; to nutrition students Bruna Cerqueira and Bruno Cruz, who voluntarily contributed to data collection; and to the public and private laboratories that supported the collection and analysis of laboratory indicators. For the purpose of open access, the author has applied a Creative Commons Attribution (CC BY) license to any Author-Accepted Manuscript version arising from this submission.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Dos Santos Farias, E.; Moreira, K.F.A.; dos Santos, J.P.; Gemelli, I.F.B.; da Costa, G.M.; de Souza, O.F. Overweight and Obesity: Prevalence in Children and Adolescents in Northern Brazil. *J. Hum. Growth Dev.* **2020**, *30*, 266–273. [CrossRef]
2. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Pesquisa Nacional de Saúde Do Escolar. 2015. Available online: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv97870.pdf> (accessed on 15 August 2022).
3. BRASIL. Ministério da Saúde VIGITEL—Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico. 2017. Available online: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2017_vigilancia_fatores_riscos.pdf (accessed on 15 August 2022).
4. Vergetti Bloch, K.; Henrique Klein, C.; Szklo, M.; Cristina Kuschner, M.C.; de Azevedo Abreu, G.; Augusta Barufaldi, L.; Valeria da Veiga, G.; Schaan, B.; Luiz Nogueira da Silva, T. ERICA: Prevalências de Hipertensão Arterial e Obesidade Em Adolescentes Brasileiros. *Saúde Pública* **2016**, *50*, 9s. [CrossRef]
5. Dos Santos, F.B.; Schneider, B.C.; Valença, M.S.; Peter, N.B.; Muniz, L.C. Fatores de Risco Comportamentais Para Doenças Cardiovasculares Entre Adolescentes Da Zona Rural de Um Município Do Sul Do Brasil. *Cad. Saude Publica* **2021**, *37*, e00241119. [CrossRef] [PubMed]
6. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018—Análise Do Consumo Alimentar No Brasil*; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Brasília, Brazil, 2020.
7. Monteiro, C.A.; Cannon, G.; Levy, R.B.; Moubarac, J.C.; Louzada, M.L.C.; Rauber, F.; Khandpur, N.; Cediel, G.; Neri, D.; Martinez-Steele, E.; et al. Ultra-Processed Foods: What They Are and How to Identify Them. *Public Health Nutr.* **2019**, *22*, 936–941. [CrossRef] [PubMed]
8. Segura, I.E. Avaliação Do Estado Nutricional e Consumo Alimentar de Escolares Da Rede Municipal de Educação de São Paulo. Master's Thesis, Faculdade de Saúde Pública, Sao Paulo, Brazil, 2019. [CrossRef]

9. Lane, M.; Howland, G.; West, M.; Hockey, M.; Marx, W.; Loughman, A.; O'Hely, M.; Jacka, F.; Rocks, T. The Effect of Ultra-Processed Very Low-Energy Diets on Gut Microbiota and Metabolic Outcomes in Individuals with Obesity: A Systematic Literature Review. *Obes. Res. Clin. Pract.* **2020**, *14*, 197–204. [CrossRef]
10. Ministry of Health of Brazil Secretariat of Health Care Primary Health Care Department, B. *Dietary Guidelines for the Brazilian Population*; Ministry of Health of Brazil Secretariat of Health Care Primary Health Care Department: Brasilia, Brazil, 2015; ISBN 9788533422421.
11. Pagliai, G.; Dinu, M.; Madarena, M.P.; Bonaccio, M.; Iacoviello, L.; Sofi, F. Consumption of Ultra-Processed Foods and Health Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Br. J. Nutr.* **2021**, *125*, 308–318. [CrossRef]
12. Crispim, S.P. *Manual Fotográfico de Quantificação Alimentar*, 1st ed.; Universidade Federal do Paraná: Curitiba, Brazil, 2017; ISBN 9788568566084.
13. UNICAMP. TBCA—Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Available online: http://www.tbca.net.br/base-dados/composicao_alimentos.php (accessed on 15 August 2022).
14. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. POF—Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008–2009—Tabelas de Composição Nutricional Dos Alimentos Consumidos No Brasil. Available online: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50002.pdf> (accessed on 15 August 2022).
15. WHO. World Health Organization. Curva de Crescimento Infantil—IMC/I (5–19 Anos). Available online: <https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years/indicators/bmi-for-age> (accessed on 15 August 2022).
16. Fernández, J.R.; Redden, D.T.; Pietrobelli, A.; Allison, D.B. Waist Circumference Percentiles in Nationally Representative Samples of African-American, European-American, and Mexican-American Children and Adolescents. *J. Pediatr.* **2004**, *145*, 439–444. [CrossRef]
17. McCarthy, H.D.; Ashwell, M. A Study of Central Fatness Using Waist-to-Height Ratios in UK Children and Adolescents over Two Decades Supports the Simple Message—‘Keep Your Waist Circumference to Less than Half Your Height’. *Int. J. Obes.* **2006**, *30*, 988–992. [CrossRef]
18. Nambiar, S.; Truby, H.; Abbott, R.A.; Davies, P.S.W. Validating the Waist-Height Ratio and Developing Centiles for Use amongst Children and Adolescents. *Acta Paediatr.* **2009**, *98*, 148–152. [CrossRef]
19. De Souza e Silva, L.C.; Barbosa e Silva, S.L.; de Oliveira, S.A.M.; de Araujo, J.R.; de Arrauda, I.K.G.; Maio, R.; da Conceicao Chaves de Lemos, M. Hypertriglyceridemic Waist and Associated Factors in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Rev. Paul. Pediatr.* **2020**, *38*, e2019073. [CrossRef]
20. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Fats and Fatty Acids in Human Nutrition: Report of an Expert Consultation*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Geneva, Switzerland, 2008; ISBN 9789251067338.
21. World Health Organization. *Guideline: Sugars Intake for Adults and Children*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2015.
22. De Moura Souza, A.; Barufaldi, L.A.; de Azevedo Aberu, G.; Giannini, D.T.; de Oliveira, C.L.; dos Santos, M.M.; Leal, V.S.; de Assis Guedes Vasconcelos, F. ERICA: Intake of Macro and Micronutrients of Brazilian Adolescents. *Rev. Saude Publica* **2016**, *50*, 1s–15s. [CrossRef]
23. Retondario, A.; de Oliveira Alves, M.A.; Ferreira, S.M.R. Contribution of Ultra-Processed Food to the Nutritional Dietary Profile of Young Children School Feeding. *Rev. Nutr.* **2022**, *35*, e210106. [CrossRef]
24. Andrade, L.M.M.; Costa, J.A.; Carrara, C.F.; Netto, M.P.; Cândido, A.P.C.; Oliveira e Silva, R.M.S.; Mendes, L.L. Estado Nutricional, Consumo de Alimentos Ultraprocessados e Imagem Corporal de Adolescentes de Uma Escola Privada Do Município de Juiz de Fora—MG. *HU Rev.* **2019**, *45*, 40–46. [CrossRef]
25. Da Costa, B.G.G.; del Duca, G.F.; da Silva, K.S.; Benedet, J.; Malheiros, L.E.A.; Quadros, E.N.; Streb, A.R.; Rezende, L.F.M. Socioeconomic Inequalities in the Consumption of Minimally Processed and Ultra-Processed Foods in Brazilian Adolescents. *Cien. Saude Colet.* **2022**, *27*, 1469–1476. [CrossRef]
26. BRASIL. Ministério da Saúde Guia Alimentar para a População Brasileira. Available online: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf (accessed on 15 August 2022).
27. Agnoli, C.; Baroni, L.; Bertini, I.; Ciappellano, S.; Fabbri, A.; Papa, M.; Pellegrini, N.; Sbarbati, R.; Scarino, M.L.; Siani, V.; et al. Position Paper on Vegetarian Diets from the Working Group of the Italian Society of Human Nutrition. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2017**, *27*, 1037–1052. [CrossRef]
28. Vellozo, E.P.; Fisberg, M. O Impacto Da Fortificação de Alimentos Na Prevenção Da Deficiência de Ferro. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* **2010**, *32*, 134–139. [CrossRef]
29. Green, R.; Allen, L.H.; Bjørke-Monsen, A.L.; Brito, A.; Guéant, J.L.; Miller, J.W.; Molloy, A.M.; Nexø, E.; Stabler, S.; Toh, B.H.; et al. Vitamin B12 Deficiency. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2017**, *3*, 1–20. [CrossRef]
30. Rosenthal, J.; Largaespada, N.; Bailey, L.B.; Cannon, M.; Alverson, C.J.; Ortiz, D.; Kauwell, G.P.A.; Sniezek, J.; Figueroa, R.; Daly, R.; et al. Folate Deficiency Is Prevalent in Women of Childbearing Age in Belize and Is Negatively Affected by Coexisting Vitamin B-12 Deficiency: Belize National Micronutrient Survey 2011. *J. Nutr.* **2017**, *147*, 1183–1193. [CrossRef]
31. Dang, S.; Yan, H.; Zeng, L.; Wang, Q.; Li, Q.; Xiao, S.; Fan, X. The Status of Vitamin B12 and Folate among Chinese Women: A Population-Based Cross-Sectional Study in Northwest China. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e112586. [CrossRef]
32. Bouvard, V.; Loomis, D.; Guyton, K.Z.; Grosse, Y.; El Ghissassi, F.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Mattock, H.; Straif, K.; Stewart, B.W.; et al. Carcinogenicity of Consumption of Red and Processed Meat. *Lancet Oncol.* **2015**, *2045*, 1599–1600. [CrossRef]

33. Faria-Neto, J.R.; Bento, V.F.R.; Baena, C.P.; Olandoski, M.; de Oliveira Gonçalves, L.G.; de Azevedo Abreu, G.; Kuschnir, M.C.C.; Bloch, K.V. ERICA: Prevalence of Dyslipidemia in Brazilian Adolescents. *Rev. Saude Publica* **2016**, *50*, 1s–10s. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kuschnir, M.C.C.; Bloch, K.V.; Szklo, M.; Klein, C.H.; Barufaldi, L.A.; de Azevedo Abreu, G.; Schaan, B.; da Veiga, G.V.; da Silva, T.L.N.; de Vasconcellos, M.T.L.; et al. ERICA: Prevalence of Metabolic Syndrome in Brazilian Adolescents. *Rev. Saude Publica* **2016**, *50*, 1s–13s. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Mascarenhas, J.M.O.; Silva, R.d.C.R.; Machado, M.E.P.C.; Santos, C.A.d.S.T.; Marchioni, D.M.L.; Barreto, M.L. Validation of a Food Frequency Questionnaire Designed for Adolescents in Salvador, Bahia, Brazil. *Rev. Nutr.* **2016**, *29*, 163–171. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

6.2 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 2

Os resultados apresentados neste capítulo se referem ao segundo manuscrito produto da tese, submetido à publicação em dezembro de 2022 (em avaliação), e respondem ao segundo objetivo específico da pesquisa - Avaliar a associação entre zona geográfica da escola (rural ou urbana), características clínicas e do consumo alimentar, diagnóstico laboratorial e antropométrico, e as concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp.

Título: *Higher Bifidobacterium spp. fecal abundance is associated with a lower prevalence of hyperglycemia and cardiovascular risk among schoolchildren from Bahia, Brazil.*

Periódico: PLOS One (*open access*; fator de impacto 3,752; classificação A1 para área de avaliação Medicina II).

ID: PONE-D-22-33730R1

Principais resultados: As concentrações fecais de BIF foram maiores entre os indivíduos que tiveram menor ingestão de carnes. A abundância de BIF foi maior entre os indivíduos com menor CC e RCE. A baixa concentração de BIF foi associada à maior prevalência de hiperglicemia (RP 1,04, IC95% 1,02-1,07, $p = 0,001$) e de RCE elevada (RP 1,04, IC95% 1,01-1,08, $p = 0,015$). Esses achados permitem concluir que a concentração fecal de BIF tem relação com parâmetros dietéticos e antropométricos em indivíduos em idade escolar, estando o seu aumento associado com alterações metabólicas positivas. Esses dados reforçam a necessidade de políticas públicas de segurança alimentar e nutricional que visem o enfrentamento às doenças crônicas não transmissíveis entre crianças e adolescentes.

1

2

3

4 **Full title:** Higher *Bifidobacterium* spp. fecal abundance is associated with a lower
5 prevalence of hyperglycemia and cardiovascular risk markers among schoolchildren
6 from Bahia, Brazil

7 **Short title:** Association of *Bifidobacterium* spp. fecal abundance with hyperglycemia
8 and cardiovascular risk

9

10 Camilla A. Menezes ¹, Dalila L. Zanette ², Letícia B. Magalhães ¹, Jacqueline Tereza da
11 Silva ³, Renata M. R. S. Lago ⁴, Alexvon N. Gomes ⁴, Ronald A. dos Santos ¹, Ana Marice
12 T. Ladeia ⁴, Nelzair A. Vianna ¹, and Ricardo R. Oliveira ^{1,*}

13

14

15

16 ¹ Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, Salvador, Bahia, Brazil

17 ² Carlos Chagas Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, Curitiba, Paraná, Brazil

18 ³ Global Academy of Agriculture and Food Systems, The University of Edinburgh,
19 Edinburgh, Scotland, United Kingdom

20 ⁴ Bahiana School of Medicine and Public Health, Salvador, Bahia, Brazil

21

22 * Corresponding author

23 E-mail: ricardo.riccio@fiocruz.br (RRO)

24

25 Abstract

26 The gut microbiome has recently been the subject of considerable scientific
27 interest due to its essential bodily functions. Several factors can change the
28 composition and function of the gut microbiome, and dietary habits are one of the most
29 important contributors. Despite the recognition of the probiotic effects related to the
30 genus *Bifidobacterium* spp. (BIF) studies aiming to assess its relationship with metabolic
31 outcomes show conflicting results, particularly in the child population. This cross-
32 sectional study aimed to evaluate the fecal abundance of BIF in a group of
33 schoolchildren from public schools in Bahia, Brazil, and to investigate their
34 relationship with food consumption and laboratory and anthropometric
35 characteristics. A sample of 190 subjects aged 5 to 19y was randomly selected for
36 dietary, laboratory, and anthropometric assessment. Fecal BIF abundance assessment
37 was performed using the Real-Time Polymerase Chain Reaction assay. Fecal BIF
38 abundance was higher among subjects who had lower intakes of meat. The abundance
39 of BIF was also higher among subjects with lower Waist Circumference and Waist-to-
40 Height Ratio (WHtR). Low BIF abundance was associated with a higher prevalence of
41 hyperglycemia (PR 1.04, 95%CI 1.02-1.07, $p = 0.001$) and high WHtR (PR 1.04, 95%CI
42 1.01-1.08, $p = 0.015$). These findings allow us to conclude that BIF fecal abundance is
43 related to dietary and anthropometric parameters in schoolchildren, and its increase is
44 associated with positive metabolic outcomes.

45 Introduction

46 The human gut microbiome has been the subject of considerable scientific
47 interest in recent years, particularly after the development of metagenomic studies.
48 The digestive microbiota varies along the gastrointestinal tract, with the largest
49 concentration in the large intestine. The genera *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp.,
50 and *Lactobacillus* spp. are the most prevalent, which suggests that they are particularly
51 significant for the host organism physiology (1).

52 A healthy gut microbiome develops essential bodily functions, which can be
53 classified into metabolism, protection, and tropism. The metabolism function is related
54 to the synthesis, digestion, and absorption of nutrients and the modulation of gut-
55 brain communication. The protection function is associated with preventing
56 pathogenic microorganisms' growth, either by colonization site competition or by the
57 ability to produce antimicrobial peptides. Finally, the trophic position occurs by
58 stimulating the proliferation and differentiation of the intestinal epithelium and
59 developing and modulating the immune system (2).

60 The genus *Bifidobacterium* spp. belongs to the phylum *Actinobacteria* and
61 comprises 29 Gram-positive species. Probiotic effects related to this genus include the
62 recovery of the intestinal microbiota after antimicrobial therapy, reduction of serum
63 cholesterol levels through the degradation and absorption of bile acids, and

64 immunomodulatory activity (3). Despite this, studies that aim to assess the
65 relationship between *Bifidobacterium* spp. and metabolic outcomes, such as obesity and
66 cardiovascular disease, present conflicting results, especially in the child population.

67 In addition, Brazil follows the global trend of reducing the prevalence of
68 underweight and increasing overweight and obesity in the school-age population,
69 currently recognized as a public health problem (4). In turn, obesity is associated with
70 the development of Chronic Noncommunicable Diseases (NCDs), which can develop
71 because of multiple causes, with an unhealthy diet being one of the main modifiable
72 risk factors (5). Although clinical manifestations are more frequently observed in
73 adulthood, exposure to risk factors has occurred at an increasingly early age, especially
74 those related to diet (6).

75 Several factors can alter the composition and function of the intestinal
76 microbiota. However, dietary patterns are among those that contribute the most (7).
77 Therefore, this study aimed to evaluate the fecal abundance of *Bifidobacterium* spp. of
78 a group of students from public schools in Bahia, Brazil, and to investigate its
79 relationship with food consumption and with laboratory and anthropometric
80 characteristics. It is hoped that the results of this study will contribute to the
81 knowledge of the school-age population's health conditions at the local level and may
82 guide the implementation and realignment of public policies on Food and Nutrition
83 Security.

84 **Materials and Methods**

85 **Population and Data Collection**

86 The population of this cross-sectional study is composed of students from
87 Barrocas, Biritinga, Serrinha, Teofilândia, and Valente, in the interior of Bahia, Brazil,
88 regularly enrolled in the municipal public education system in the years 2019 and 2020.
89 Individuals aged 5 and 19 years were eligible and invited to participate in the study.
90 Those with a previous diagnosis of food allergies and intolerances and the use of
91 antibiotics 30 days before the fecal material collection were excluded. Considering an
92 estimated overweight proportion of 15% (95% CI) and a desired precision of 5%, we
93 obtained a sample of 190 randomly selected individuals.

94 A trained team collected clinical-demographic, dietary, laboratory, and
95 anthropometric information in the morning at the school where the subjects were
96 regularly enrolled.

97 **Clinical and demographic assessment**

98 A face-to-face interview was guided by a previously structured questionnaire
99 containing questions about the individual's clinical history, to be answered by the legal
100 guardian. In addition to identification data, the questions included type of delivery;

101 presence and duration of exclusive breastfeeding; disease history; family history; and
102 medication use.

103 **Food consumption evaluation**

104 The validated 24-hour recall instrument was used based on identifying and
105 quantifying all foods ingested on the day before the interview. In addition, a
106 photographic album of food portions was used to help fill in the information and more
107 accurately determine the portioning of consumed food (8). The Brazilian Food
108 Composition Table (9) and the Centesimal Food Composition Table of the Brazilian
109 Institute of Geography and Statistics (10) were used to assess food consumption
110 quantitatively. For qualitative evaluation, the NOVA classification was used (11).

111 **Blood and stool assessment**

112 Blood samples were collected in a fasting state by a specialized technical team
113 and analyzed by the local Central Public Health Laboratory and local private
114 laboratories, under the support and responsibility of the Health Department of the
115 municipalities involved. The following indicators were evaluated: complete blood
116 count, fasting glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, ferritin, vitamin
117 B12, and vitamin D (25-OH-vitamin D3).

118 The participants collected stool samples for parasitological and microbiota
119 analysis and placed them in sterile containers previously provided by the research
120 team. The stool samples were transported at 4° C to local support laboratories, where
121 an aliquot was extracted, which was later transported on dry ice to the Laboratory of
122 Experimental Pathology at the Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, in
123 Salvador, Bahia, Brazil, to be stored at -20° C until analysis. The remaining stool sample
124 was sent for parasitological analysis in a private laboratory in the same city.

125 Stool samples bacterial DNA extraction was performed using the QIAamp
126 PowerFecal DNA Kit® (QIAGEN, Canada), according to the manufacturer's
127 specifications. Quantification and analysis of the purity of the extracted DNA were
128 performed using the NanoDrop® spectrophotometry equipment (Thermo Fisher
129 Scientific, United States). Interest microbiota quantification was performed by the
130 Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method, using the Real-time PCR
131 7500® equipment (Thermo Fisher Scientific, United States). For quantification of total
132 bacteria (TB), Primer Forward ACTCCTACGGGAGGCAGCAG and Primer Reverse
133 ATTACCGCGGCTGCTGG were used. For analysis of *Bifidobacterium* spp. (BIF)
134 Primer Forward GCGTGCTTAACACATGCAAGTC and Primer Reverse
135 CACCCTTCCAGGAGCTATT were used (Ludwig Biotechnology®). Analyzes were
136 performed using 1 µL of the extracted DNA, 5 µL of Sybr Green Master Mix® (Applied
137 Biosystems, United States), 0.1 µL of Primer Forward, 0.1 µL of Primer Reverse, and
138 3.8 µL of ultrapure water, adding 10 µL in the final reaction. The process was
139 performed for both TB and BIF quantification. The amplification program conducted

140 on the equipment was: 50° C for 2 minutes, 95° C for 10 minutes, followed by 40 cycles
 141 at 95° C for 1 second and at 60° C for 1 minute, adding the Melt Curve Stage (95° C for
 142 15 seconds, 60° C for 1 minute, 95° C for 30 seconds, 60° C for 15 seconds).

143 The result of the target DNA amplification in RT-PCR is provided in a
 144 Threshold Cycle (Ct) value. In addition, a value of delta Ct (ΔCt) was extracted from
 145 it, the result of subtracting the Ct of the target gene (BIF) from the Ct of the reference
 146 gene (TB), as shown in Equation 1. The quantification results were presented in
 147 Relative Expression Units (REU), dividing 10,000 by 2 to the delta Ct, according to the
 148 model previously described (12), as shown in Equation 2. These results express an idea
 149 of *Bifidobacterium* spp. abundance about the total number of bacteria in the sample.

$$150 \quad \Delta Ct = Ct \text{ of the target gene (BIF)} - Ct \text{ of the reference gene (TB)} \quad (1)$$

$$151 \quad REU = 10.000 / 2^{\Delta Ct} \quad (2)$$

152 **Anthropometric evaluation**

153 Nutritional status was classified by the Body Mass Index (BMI) for Age
 154 (BMI/A). With the student wearing the school uniform, weight was measured using a
 155 digital electronic scale (Seca®, Hamburg, Germany) with a maximum capacity of 150
 156 kg and an accuracy of 0.1 kg. Height was measured with the student without shoes,
 157 using a portable vertical stadiometer (AVA-312®, Brazil) graduated in centimeters,
 158 with a maximum capacity of 2.10 m and accuracy of 0.001 m. BMI/A was classified
 159 according to the World Health Organization child growth curves (13). Waist
 160 Circumference (WC) was assessed with an inelastic measuring tape (Balmak®, Brazil)
 161 with a measurement range from 0 to 150 cm and graduated in millimeters and
 162 classified according to the curves proposed by Fernandez (14). Waist-to-Height Ratio
 163 (WHtR) was calculated as suggested by McCarthy and Ashwell (15) and validated for
 164 children and adolescents by Nambiar and collaborators (16) to classify cardiovascular
 165 risk.

166 **Statistical analysis**

167 Statistical analyzes were performed using R 4.1.0, GraphPad Prism 8.2.1, and
 168 Stata 11 software. To characterize the sample, a descriptive analysis was performed.
 169 After verifying the normality behavior of the numerical variables, using the
 170 Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests, measures of central tendency and
 171 dispersion were established, considering the means and their respective Standard
 172 Deviation (SD) for the parametric variables, and the medians and their interquartile
 173 ranges (IQR) for the non-parametric ones. The Student's t-test for parametric variables
 174 and the Mann-Whitney test for non-parametric ones were used to compare these
 175 measures. The Kruskal-Wallis test was used to compare non-parametric variables
 176 between three or more groups. Categorical variables were compared using Pearson's

177 chi-square test and Fisher's exact test when appropriate. Inferential statistics were
 178 performed using Pearson's correlation coefficient for parametric variables and
 179 Spearman correlation coefficient for non-parametric ones. The binomial logistic
 180 regression model was used to investigate association (Prevalence Ratio). P values
 181 lower than 0.05 were considered significant.

182 Ethics statements

183 The research entitled "Evaluation of an intervention project in school meals on
 184 children and adolescents health in the interior of Bahia," in which this study is
 185 inserted, was approved by the Ethics Committee in Research on Human Beings of the
 186 Bahiana School of Medicine and Public Health on September 17, 2018, under protocol
 187 number 2962623, as determined by National Health Council resolution 466/2012 (17).
 188 The participation was conditioned to voluntary agreement from the subject and their
 189 legal guardian, documented by signing the Term of Assent, when applicable, and the
 190 Term of Free and Informed Consent.

191 Results

192 Clinical and demographic assessment

193 Most of the sample was obtained from rural schools (57%) and was male (52%).
 194 The age ranged between 9 and 13 years (median 9.6 y, SD 2.8 y). Most of the population
 195 was born via vaginal delivery (64%), was exposed to breastfeeding (92%), had
 196 exclusive breastfeeding for at least the sixth month of life for 58% of them, and reported
 197 exposure to antibiotic therapy before five years of age (73%). Intestinal parasites
 198 investigation revealed infection by *Entamoeba histolytica* in 2 subjects and by *Giardia*
 199 *lamblia* in 3 participants. They were instructed about the treatment. In this population,
 200 the fecal abundance of *Bifidobacterium* spp. was not influenced by age, school location,
 201 birth delivery, breastfeeding, or antibiotic therapy in childhood (Table 1).

202 **Table 1 - *Bifidobacterium* spp. fecal abundance according to demographic and**
 203 **clinical characteristics.**

Indicators	<i>Bifidobacterium</i> spp.		
	n (%)	REU ¹	p
School location			
Rural area	109 (57)	854 (200-1805)	0.176 ²
Urban area	81 (43)	620 (104-2207)	
Sex			
Female	91 (48)	912 (188-2246)	0.147 ²
Male	99 (52)	537 (110-1687)	
Age			

5-8 y	73 (38)	447 (120-1762)	0.099 ³
9-13 y	94 (49)	1104 (188-2196)	
13-19 y	23 (13)	443 (46-1915)	
Birth delivery			
Vaginal	120 (64)	797 (126-2176)	0.936 ²
Cesarian	68 (36)	902 (139-1921)	
Breastfeeding			
Yes	173 (92)	791 (129-1768)	0.369 ²
No	15 (8)	1001 (364-3036)	
Duration of breastfeeding			
Up to 6th month	108 (58)	725 (132-2207)	0.870 ²
Less than 6th month	79 (42)	1001 (144-1756)	
Use of antibiotics before five years of age			
No	49 (27)	1111 (214-2230)	0.272 ²
Yes	132 (73)	574 (118-1790)	

204 ¹Median (interquartile range); ² Mann-Whitney test; ³ Kruskal-Wallis test.
 205 p values in bold indicate statistically significant differences (< 0,05).
 206 REU: Relative Expression Unit.

207 Food consumption evaluation

208 To assess the fecal abundance of *Bifidobacterium* spp. according to the food
 209 consumption characteristics, each of the food items was categorized into subjects who
 210 consumed more (≥ 75 th percentile) and those who consumed less (<75th percentile).
 211 *Bifidobacterium* spp. fecal abundance was lower among subjects with a higher meat
 212 intake (Table 2).

213 **Table 2 - *Bifidobacterium* spp. fecal abundance according to food consumption**
 214 **characteristics.**

Indicators	Food intake ¹	<i>Bifidobacterium</i> spp.		
		N	REU ¹	p ²
Energy (calories)	1755 (1309-2259)			
< 75th percentile		137	1058 (131-2286)	0.091
≥ 75 th percentile		46	531 (143-1165)	
Protein (g/1000Kcal)	32,2 (27,4-39,4)			
< 75th percentile		137	791 (109-2192)	0.867
≥ 75 th percentile		46	819 (183-1437)	
Carbohydrates (g/1000Kcal)	133,8 (115,0-151,4)			
< 75th percentile		139	791 (126-1856)	0.520
≥ 75 th percentile		44	965 (136-2173)	
Lipids (g/1000Kcal)	37,5 (31,6-44,3)			
< 75th percentile		137	902 (125-2169)	0.862
≥ 75 th percentile		46	754 (172-1614)	
Saturated fatty acids (g/1000Kcal)	12,4 (9,9-15,4)			
< 75th percentile		138	574 (122-1827)	0.142

≥ 75th percentile		45	1015 (290-2309)	
Monounsaturated fatty acids (g/1000Kcal)	11,6 (9,6-14,1)			
< 75th percentile		138	817 (121-1872)	0.446
≥ 75th percentile		45	797 (211-2301)	
Polyunsaturated fatty acids (g/1000Kcal)	8,7 (6,4-11,0)			
< 75th percentile		138	909 (132-1827)	0.739
≥ 75th percentile		45	529 (136-2326)	
Trans fatty acids (g/1000Kcal)	1,4 (1,1-2,0)			
< 75th percentile		138	854 (137-1780)	0.848
≥ 75th percentile		45	508 (126-2192)	
Fiber (g/1000Kcal)	7,6 (6,2-9,0)			
< 75th percentile		137	769 (152-1756)	0.631
≥ 75th percentile		46	1073 (66-3041)	
Total sugar (g/1000Kcal)	48,9 (28,7-70,0)			
< 75th percentile		138	772 (151-1768)	0.766
≥ 75th percentile		45	1303 (66-2441)	
Unprocessed food (g/1000Kcal)	477,1 (354,3-597,7)			
< 75th percentile		137	797 (148-1768)	0.580
≥ 75th percentile		46	888 (100-2973)	
Unprocessed meat (g/1000Kcal)	93,0 (40,0-151,7)			
< 75th percentile		136	1088 (157-2681)	0.007
≥ 75th percentile		47	430 (104-1088)	
Unprocessed vegetables (g/1000Kcal)	245,0 (86,1-492,8)			
< 75th percentile		136	573 (135-1762)	0.240
≥ 75th percentile		47	1134 (123-2365)	
Processed food (g/1000Kcal)	38,4 (0,0-75,7)			
< 75th percentile		137	733 (117-2169)	0.397
≥ 75th percentile		46	1022 (159-1780)	
Ultra-processed food (g/1000Kcal)	61,5 (30,0-100,6)			
< 75th percentile		139	775 (126-1768)	0.485
≥ 75th percentile		44	1303 (152-2207)	

215 ¹Median (interquartile range); ² Mann-Whitney test.

216 p values in bold indicate statistically significant differences (< 0,05).

217 REU: Relative Expression Unit.

218 "Unprocessed meat" was any preparation with red meat, poultry, pork, and fish. Any preparation with
219 unprocessed fruits and vegetables was considered an "unprocessed vegetable."

220 Laboratory and anthropometric assessment

221 According to Table 3, there was no statistically significant difference in the fecal
222 abundance of *Bifidobacterium* spp. between subjects who had hyperglycemia,
223 hypercholesterolemia, and hypertriglyceridemia and those who did not. In terms of
224 anthropometry, although there was no difference between nutritional status (BMI/A),
225 the abundance of *Bifidobacterium* spp. was significantly higher among subjects with
226 lower WC and WHtR when compared to those above the recommended value (90

227 IQR 153-2199 vs. 178 IQR 79-1135, $p = 0.048$; 902 IQR 145-2207 vs. 181 IQR 107-1026, p
 228 $= 0.048$, respectively).

229 **Table 3 - *Bifidobacterium* spp. fecal abundance according to laboratory and**
 230 **anthropometric characteristics.**

Indicators	Variable ¹	<i>Bifidobacterium</i> spp.		
		n (%)	REU ¹	p
Fasting glucose (mg/dL)	85.0 (79.5-90.0)			
Desirable		172 (94)	819 (140-2199)	0.374 ²
High		11 (6)	522 (89-1672)	
Total cholesterol (mg/dL)	157 (136-180)			
Desirable/Tolerable		161 (88)	866 (136-2192)	0.376 ²
High		22 (12)	465 (124-1329)	
LDL cholesterol (mg/dL)	79 (68-102)			
Desirable		169 (92)	775 (127-1888)	0.473 ²
High		14 (8)	1272 (144-3843)	
Triglycerides (mg/dL)	72.5 (55.0-95.0)			
Desirable		152 (83)	794 (127-1905)	0.824 ²
High		31 (17)	1058 (178-2161)	
BMI (Kg/m²)	16.9 (15.0-19.6)			
Underweight		10 (5)	358 (3-1112)	0.212 ³
Eutrophy		112 (61)	909 (132-2643)	
Overweight		62 (34)	762 (155-1759)	
WC (cm)	59.2 (54.0-67.0)			
Desirable		160 (86)	909 (153-2199)	0,048 ²
High		25 (14)	178 (79-1135)	
WHtR	0.43 (0.40-0.46)			
Desirable		169 (91)	902 (145-2207)	0.048 ²
High		16 (9)	181 (107-1026)	

231 ¹Median (interquartile range); ² Mann-Whitney test; ³ Kruskal-Wallis test.

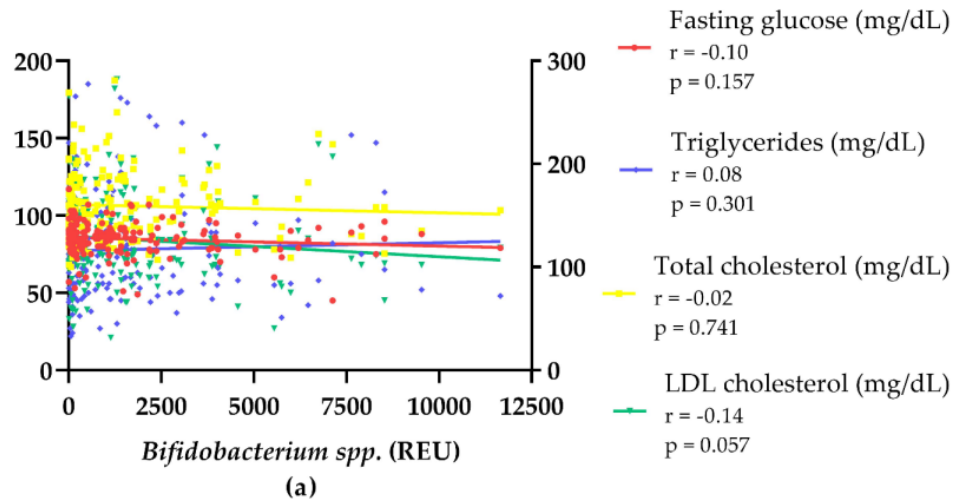
232 p values in bold indicate statistically significant differences ($< 0,05$).

233 REU (Relative Expression Unit); BMI (Body Mass Index); WC (Waist Circumference); WHtR (Waist to Height
 234 Ratio).

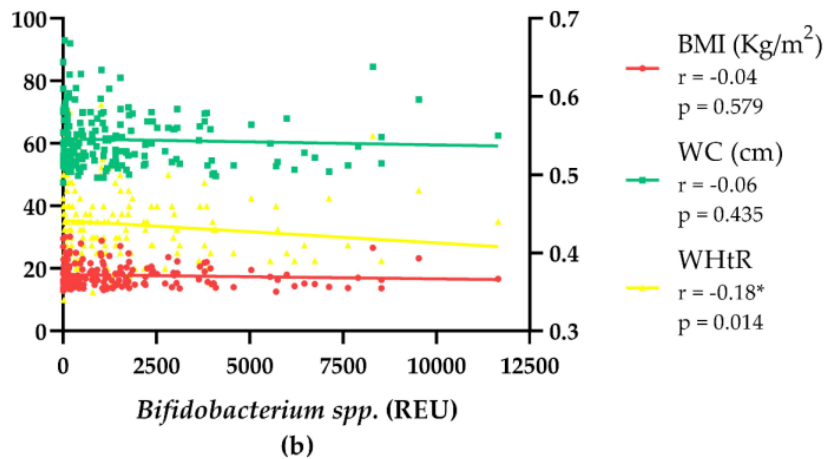
235 It was considered as high blood glucose (≥ 100 mg/dL); high total cholesterol (> 200 mg/dL); high LDL-cholesterol
 236 (≥ 130 mg/dL); high triglycerides (≥ 100 mg/dL for subjects aged 5 to 10 y, ≥ 150 mg/dL for subjects aged 11 to 19 y).
 237 Low weight was defined as the combination of thinness and severe thinness; overweight was defined as the
 238 combination of overweight, obesity, and severe obesity, according to the BMI for Age, according to the child growth
 239 curves of the World Health Organization (13). The WC was classified according to the parameters established in
 240 the literature (14). WHtR was considered high when ≥ 0.5 (15).

241 In addition to the descriptive analysis, the relationship between the fecal
 242 abundance of *Bifidobacterium* spp. and the dietary, laboratory, and anthropometric
 243 characteristics were also investigated. Fig 1 presents Spearman's correlation graphs
 244 between fecal *Bifidobacterium* spp. abundance and possible health outcomes to
 245 investigate whether the abundance of this genus in the gut microbiota could behave
 246 as an exposure factor for laboratory and anthropometric findings. There was a very

247 weak but statistically significant negative correlation ($r = -0.180$, $p = 0.014$) between the
 248 fecal abundance of *Bifidobacterium* spp. and the WHtR, demonstrating that the higher
 249 concentration of these bacteria was related to lower cardiovascular risk, using WHtR
 250 as a parameter for this classification.



251



252

253 **Fig 1. Spearman correlation between *Bifidobacterium* spp. fecal abundance and**
 254 **possible health outcomes.**

255 (a) Blood level parameters. Left Y-axis (Fasting glucose; Triglycerides; LDL-cholesterol); Right Y-axis (Total
 256 cholesterol). (b) Anthropometric parameters. Left Y-axis (BMI – Body Mass Index; WC – Waist Circumference);
 257 Right Y-axis (WHtR – Waist to Height Ratio). *Statistically significant difference ($p < 0.05$). REU: Relative Expression
 258 Unit. Spearman r classification – Very weak (0,00 to 0,19); Weak (0,20 to 0,39); Moderate (0,40 to 0,69); Strong (0,70
 259 to 0,89); Very strong (0,90 to 1,00).

260 Low *Bifidobacterium* spp. abundance was also associated with a higher
 261 prevalence of hyperglycemia (PR 1.04, 95%CI 1.02-1.07, $p = 0.001$). Likewise, the
 262 prevalence of high WHtR was 1.04 times higher in subjects who had a low
 263 *Bifidobacterium* spp. abundance when compared with those with higher concentrations
 264 (PR 1.04, 95%CI 1.01-1.08, $p = 0.015$). Data are shown in Table 4.

265 **Table 4 - Association between *Bifidobacterium* spp. fecal abundance and health**
 266 **outcomes.**

Indicators	<i>Bifidobacterium</i> spp. (REU)			p^2
	Lowest concentration ¹	Highest concentration ¹	PR (CI95%)	
Hyperglycemia				
No	129 (75%)	43 (25%)	1	
Yes	11 (100%)	0 (0%)	1.04 (1.02-1.07)	0.001
Hypercholesterolemia				
No	130 (77%)	39 (23%)	1	
Yes	10 (71%)	4 (29%)	0.99 (0.94-1.04)	0.664
Hypertriglyceridemia				
No	115 (76%)	37 (24%)	1	
Yes	25 (81%)	6 (19%)	1.02 (0.96-1.09)	0.528
Overweight				
No	90 (74%)	32 (26%)	1	
Yes	50 (81%)	12 (19%)	1.05 (0.96-1.15)	0.278
Cardiovascular risk				
No	126 (74%)	43 (26%)	1	
Yes	15 (94%)	1 (6%)	1.04 (1.01-1.08)	0.015

267 ¹n (%); ²Binomial logistic regression model.

268 p values in bold indicate statistically significant differences ($< 0,05$).

269 REU: Relative Expression Unit; PR: Prevalence Ratio; CI: 95% Confidence Interval.

270 REU of *Bifidobacterium* spp. above the 75th percentile were considered "Highest concentration," and values below
 271 the 75th percentile were considered "Lowest concentration." For laboratory parameters, the following were
 272 considered: hyperglycemia (fasting glucose ≥ 100 mg/dL); hypercholesterolemia (LDL-cholesterol ≥ 130 mg/dL);
 273 hypertriglyceridemia (≥ 100 mg/dL for subjects aged 5 to 10 y; ≥ 150 mg/dL for subjects aged 11 to 19 y). For the
 274 anthropometric parameters, overweight was defined as the junction of overweight, obesity, and severe obesity,
 275 according to the Body Mass Index (BMI) for Age (BMI/A), using the child growth curves of the World Health
 276 Organization (13). Cardiovascular risk was classified according to the Waist-to-Height Ratio (WHtR), being
 277 considered present when ≥ 0.5 (15).

278 Discussion

279 Microbiota refers to microorganisms, including bacteria, fungi, viruses, and
 280 some unicellular eukaryotes (2). The digestive microbiota is the complex community
 281 of microorganisms that live in the gastrointestinal tract of humans and animals,
 282 including insects. In humans, the intestinal microbiota concentrates most
 283 microorganisms and the most significant number of species compared to other body
 284 parts, with the largest concentration being in the large intestine (1). Several factors can

285 change the composition and function of the intestinal microbiota. In addition to genetic
286 susceptibility, type of delivery, breastfeeding, age, geographic location, antibiotic use,
287 and dietary pattern play an important role (7).

288 The gut microbiome of children born by vaginal delivery is more diverse and
289 abundant in probiotic activity species than the microbiota of children born by cesarean
290 delivery. During the first days of life, *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., and *Streptococci*
291 spp. colonize the gastrointestinal tract, and during breastfeeding, *Bifidobacterium* spp.
292 and *Lactobacillus* spp. arises (18). The first year of life is the most critical period of gut
293 microbiome development. After this phase, several factors influence the microbiota's
294 quantity, diversity, and metabolism. The phylum *Actinobacteria* is predominant in
295 children and adolescents, especially the genus *Bifidobacterium* spp. (19).

296 Children exclusively breastfed until the sixth month of life tend to show
297 *Actinobacteria* growth and *Firmicutes* and *Proteobacteria* inhibition, resulting from the
298 metabolism of oligosaccharides in human milk. On the other hand, children fed with
299 infant formula have a greater abundance of *Clostridium* spp. and *Bacteroides* spp. (19).
300 Individuals exposed to antibiotics use, especially up to the first five years of life, tend
301 to show changes in the quantity, diversity, and metabolism of the microbiota due to
302 the competitiveness mechanism change by which the microbiota inhibits the
303 colonization of pathogenic strains. This effect varies depending on the type of
304 antibiotic, dose, and length of use (20).

305 In the population investigated in this study, there was no difference in
306 *Bifidobacterium* spp. fecal abundance depends on the delivery type, age, breastfeeding,
307 and use of antibiotic therapy in childhood. It is worth noting that these variables do
308 not represent information recorded in documents but reported by the legal guardians
309 of the subjects, which implied an understanding of the questions asked at the time of
310 the interview, in addition to relying on memory.

311 People with more contact with the rural lifestyle tend to have a healthier
312 intestinal gut microbiome, with a predominance of probiotic bacteria, including
313 *Bifidobacterium* spp. (21). In this study, there was no difference in the *Bifidobacterium*
314 spp. fecal abundance according to the geographic location of the population. However,
315 the population was divided between rural and urban based on the school location
316 rather than the place of residence. Most subjects who studied in rural schools also lived
317 in this region, as did those who studied in urban schools. This may represent a
318 limitation in interpreting this result since some of the subjects evaluated studied in
319 schools located outside their residential region.

320 After childhood, the microbiota continues to develop, and the diet becomes
321 primarily responsible for its structure, shape, and variety. Due to the higher intake of
322 fiber, plant-based diets are related to the more significant variation of microbial
323 species, with *Firmicutes* and *Bacteroidetes* prevalence. On the other hand, the dietary
324 pattern rich in fats and animal protein is related to a greater abundance of bile-tolerant
325 species, such as *Bacteroides* spp., and suppression of *Firmicutes* (22,23). Furthermore,
326 the consumption of ultra-processed foods can, directly and indirectly, alter the

327 composition of the gut microbiome due to changes in the density of micronutrients
328 and energy, the presence of food additives, and Advanced Glycation End products
329 from heat treatment during the processing of these foods (24).

330 The Brazilian population has a growing tendency to replace essential foods such
331 as rice, beans, fruits, vegetables, beef, and milk with industrialized beverages and
332 foods, such as cookies, processed meats, ready-to-eat foods, sugar, and salt. As a result,
333 fruits and vegetable consumption is lower among adolescents than among adults and
334 the elderly. On the other hand, the consumption of ultra-processed foods is higher in
335 this population (25). In this study, it was observed that subjects who consumed more
336 meat, compared to those who consumed less, had lower *Bifidobacterium* spp. fecal
337 abundance. An important aspect that needs to be discussed is that, due to logistical
338 issues, the food consumption assessment presented in this study was performed using
339 a single 24-hour recall. For that, the given data represent food consumption on the day
340 before the interview, not the usual pattern of consumption, and the interpretations
341 derived from these findings should be made taking this limitation into account.

342 The main consequence of the gut microbiome imbalance is the increase of
343 intestinal mucosa permeability, which can lead to endotoxemia by lipopolysaccharides
344 synthesized by Gram-negative intestinal bacteria; increased synthesis of pro-
345 inflammatory cytokines; macrophage infiltration into adipose tissue; and the
346 consequent local and systemic inflammatory process, playing an essential role in
347 triggering peripheral insulin resistance, obesity, metabolic syndrome and
348 cardiovascular diseases (26). Another important aspect is the microbiota's ability to
349 metabolize choline and carnitine, a vitamin and amino acid, respectively, abundant in
350 the western dietary pattern because they are present in more significant amounts in
351 animal foods. The result of these compounds' metabolism is the synthesis of
352 trimethylamine, which is oxidized in the liver to trimethylamine-N-oxide. This
353 compound suppresses enzymes synthesizing bile acids and cholesterol transporters,
354 which is related to atherosclerosis pathogenesis (27). In addition, the intestinal
355 microbiota of individuals with cardiovascular diseases has a lower abundance of
356 butyrate-producing strains, such as *Bifidobacterium* spp. (1).

357 In this study, the low *Bifidobacterium* spp. fecal abundance was associated with
358 a higher prevalence of hyperglycemia, and a higher abundance of this bacterial genus
359 in the intestinal microbiota was associated with cardiovascular protection. Further
360 studies are suggested to investigate the influence of physical activity on these findings.

361 **Conclusions**

362 Our findings strongly suggest that *Bifidobacterium* spp. fecal abundance is
363 related to dietary and anthropometric parameters in school-aged subjects, and its
364 increase is associated with positive metabolic outcomes. These data reinforce the need
365 for public policies on Food and Nutrition Security to prevent NCDs among children
366 and adolescents.

367 Acknowledgments

368 Special thanks to the Public Ministry of Bahia and the Health and Education
 369 Departments of the municipalities involved for enabling the logistics for data
 370 collection; as well as the nutritionists responsible for the National School Feeding
 371 Program in the cities; to Nutrition students Bruna Cerqueira and Bruno Cruz, who
 372 voluntarily contributed to data collection; and to the public and private laboratories
 373 that supported the collection and analysis of laboratory indicators.

374 References

- 375 1. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van*
 376 *Leeuwenhoek* 2020 113:12 [Internet]. 2020 Nov 2 [cited 2022 Aug 15];113(12):2019–40.
 377 Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-020-01474-7>
- 378 2. Beserra BTS. Avaliação da microbiota intestinal e sua relação com parâmetros metabólicos em
 379 mulheres com obesidade mórbida [Internet] [Dissertação de Mestrado]. [Florianópolis, SC]:
 380 Universidade Federal de Santa Catarina; 2014 [cited 2022 Aug 15]. Available from:
 381 <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/129567>
- 382 3. Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S, Ruiz L, Ruas-Madiedo P, Sánchez B, Margolles A.
 383 Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2017 May 19
 384 [cited 2022 Aug 15];5(3). Available from:
 385 <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.BAD-0010-2016>
- 386 4. dos Santos Farias E, Moreira KFA, dos Santos JP, Gemelli IFB, da Costa GM, de Souza OF.
 387 Overweight and obesity: prevalence in children and adolescents in Northern Brazil. *Journal of*
 388 *Human Growth and Development* [Internet]. 2020 [cited 2022 Aug 15];30(2):266–73.
 389 Available from: [http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12822020000200013&lng=pt&nrm=iso&lng=en)
 390 [12822020000200013&lng=pt&nrm=iso&lng=en](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12822020000200013&lng=pt&nrm=iso&lng=en)
- 391 5. Ferreira HDS, Albuquerque GT, Santos TR dos, Barbosa RDL, Cavalcante AL, Duarte LEC, et al.
 392 Stunting and overweight among children in Northeast Brazil: Prevalence, trends (1992-2005-
 393 2015) and associated risk factors from repeated cross-sectional surveys. *BMC Public Health*
 394 [Internet]. 2020 May 20 [cited 2022 Aug 15];20(1):1–15. Available from:
 395 <https://bmcpublichealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12889-020-08869-1>
- 396 6. dos Santos FB, Schneider BC, Valença MS, Peter NB, Muniz LC. Fatores de risco
 397 comportamentais para doenças cardiovasculares entre adolescentes da zona rural de um
 398 município do Sul do Brasil. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2021 Mar 12 [cited 2022 Aug
 399 15];37(2):e00241119. Available from: <https://www.stata.com>
- 400 7. Ronan V, Yeasin R, Claud EC. Childhood Development and the Microbiome—The Intestinal
 401 Microbiota in Maintenance of Health and Development of Disease During Childhood
 402 Development. *Gastroenterology* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Aug 15];160(2):495–506.
 403 Available from: <http://www.gastrojournal.org/article/S0016508520355268/fulltext>
- 404 8. Crispim SP. Manual Fotográfico de Quantificação Alimentar. 1ª edição. Curitiba: Universidade
 405 Federal do Paraná; 2017. 147.

- 406 9. UNICAMP. TBCA - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. [Internet]. [cited 2022 Aug
407 15]. Available from: http://www.tbca.net.br/base-dados/composicao_alimentos.php
- 408 10. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares
409 2008-2009 - Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil
410 [Internet]. 2011 [cited 2022 Aug 15]. Available from:
411 <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50002.pdf>
- 412 11. Ministry of Health of Brazil Secretariat of Health Care Primary Health Care Department B.
413 Dietary Guidelines for the Brazilian Population [Internet]. Brasília; 2015. 152 p. Available from:
414 http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/guia_alimentar_
- 415 12. Albesiano E, Messmer BT, Damle RN, Allen SL, Rai KR, Chiorazzi N. Activation-induced cytidine
416 deaminase in chronic lymphocytic leukemia B cells: expression as multiple forms in a dynamic,
417 variably sized fraction of the clone. *Blood* [Internet]. 2003 Nov 1 [cited 2022 Aug
418 15];102(9):3333–9. Available from:
419 [https://ashpublications.org/blood/article/102/9/3333/17752/Activation-induced-cytidine-](https://ashpublications.org/blood/article/102/9/3333/17752/Activation-induced-cytidine-deaminase-in-chronic)
420 [deaminase-in-chronic](https://ashpublications.org/blood/article/102/9/3333/17752/Activation-induced-cytidine-deaminase-in-chronic)
- 421 13. WHO. World Health Organization. Curva de crescimento infantil - IMC/I (5-19 anos) [Internet].
422 2007 [cited 2022 Aug 15]. Available from: [https://www.who.int/toolkits/growth-reference-](https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years/indicators/bmi-for-age)
423 [data-for-5to19-years/indicators/bmi-for-age](https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years/indicators/bmi-for-age)
- 424 14. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in
425 nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-
426 American children and adolescents. *J Pediatr* [Internet]. 2004 Oct 1 [cited 2022 Aug
427 16];145(4):439–44. Available from:
428 <http://www.jpeds.com/article/S0022347604005530/fulltext>
- 429 15. McCarthy HD, Ashwell M. A study of central fatness using waist-to-height ratios in UK children
430 and adolescents over two decades supports the simple message – ‘keep your waist
431 circumference to less than half your height.’ *International Journal of Obesity* 2006 30:6
432 [Internet]. 2006 Jan 24 [cited 2022 Aug 15];30(6):988–92. Available from:
433 <https://www.nature.com/articles/0803226>
- 434 16. Nambiar S, Truby H, Abbott RA, Davies PSW. Validating the waist-height ratio and developing
435 centiles for use amongst children and adolescents. *Acta Paediatr* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited
436 2022 Aug 15];98(1):148–52. Available from:
437 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1651-2227.2008.01050.x>
- 438 17. BRASIL. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Dispõe sobre diretrizes e normas
439 regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. *Diário Oficial [da] República*
440 *Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 13 jun. 2013 [Internet]. 2013. Available from:
441 <https://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>
- 442 18. de Souza ME, Pereira PCM. Microbiota intestinal de indivíduos que sofreram acidente
443 ocupacional com materiais biológicos e que realizaram profilaxia anti-retroviral. *Rev Soc Bras*
444 *Med Trop* [Internet]. 2007 [cited 2022 Aug 15];40(6):653–6. Available from:
445 <http://www.scielo.br/j/rsbmt/a/b3BGtZd8SbKbh96wVp8ZPyk/?lang=pt>

- 446 19. Ihekweazu FD, Versalovic J. Development of the Pediatric Gut Microbiome: Impact on Health
447 and Disease. *Am J Med Sci* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 Aug 15];356(5):413–23.
448 Available from: <http://www.amjmedsci.org/article/S0002962918303021/fulltext>
- 449 20. Gong C, Yang L, Liu K, Shen S, Zhang Q, Li H, et al. Effects of Antibiotic Treatment and
450 Probiotics on the Gut Microbiome of 40 Infants Delivered Before Term by Cesarean Section
451 Analysed by Using 16S rRNA Quantitative Polymerase Chain Reaction Sequencing. *Medical
452 Science Monitor*. 2021 Feb 5;27.
- 453 21. Zhuang L, Chen H, Zhang S, Zhuang J, Li Q, Feng Z. Intestinal Microbiota in Early Life and Its
454 Implications on Childhood Health. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2019 Feb 1;17(1):13–
455 25.
- 456 22. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly
457 and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2013 505:7484 [Internet]. 2013
458 Dec 11 [cited 2022 Aug 15];505(7484):559–63. Available from:
459 <https://www.nature.com/articles/nature12820>
- 460 23. Iddrisu I, Monteagudo-Mera A, Poveda C, Pyle S, Shahzad M, Andrews S, et al. Malnutrition
461 and Gut Microbiota in Children. *Nutrients* 2021, Vol 13, Page 2727 [Internet]. 2021 Aug 8
462 [cited 2022 Aug 15];13(8):2727. Available from: [https://www.mdpi.com/2072-
463 6643/13/8/2727/htm](https://www.mdpi.com/2072-6643/13/8/2727/htm)
- 464 24. Miclotte L, van de Wiele T. Food processing, gut microbiota and the globesity problem.
465 <https://doi.org/10.1080/1040839820191596878> [Internet]. 2019 Jun 16 [cited 2022 Aug
466 15];60(11):1769–82. Available from:
467 <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2019.1596878>
- 468 25. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-
469 2018 - Análise do Consumo Alimentar no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-
470 2018 - Análise do Consumo Alimentar no Brasil Brasil; 2020.
- 471 26. Pellizoni FP, Leite AZ, Rodrigues N de C, Ubaiz MJ, Gonzaga MI, Takaoka NNC, et al. Detection
472 of Dysbiosis and Increased Intestinal Permeability in Brazilian Patients with Relapsing-
473 Remitting Multiple Sclerosis. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2022
474 Aug 15];18(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33925359/>
- 475 27. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota
476 metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*
477 2013 19:5 [Internet]. 2013 Apr 7 [cited 2022 Aug 15];19(5):576–85. Available from:
478 <https://www.nature.com/articles/nm.3145>
- 479

6.3 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 3

Os resultados apresentados neste capítulo se referem ao terceiro manuscrito produto da tese, submetido à publicação em parceria com o grupo da Universidade de Manchester em janeiro de 2022, e respondem ao terceiro objetivo específico da pesquisa - Determinar as características nutricionais dos cardápios escolares implementados no âmbito do Programa Escola Sustentável.

Título: *An environmental and nutritional evaluation of school food menus in Bahia, Brazil, that contribute to local public policy to promote sustainability.*

Periódico: *Nutrients* (open access; fator de impacto 6,706; classificação A2 para área de avaliação Medicina II).

DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14071519>

Principais resultados: A avaliação quantitativa dos cardápios demonstrou que eles eram equivalentes em termos de nutrientes, com exceção ao teor de cálcio, que foi mais elevado no “convencional”, e de ferro e magnésio, que foi superior no “sustentável”. A outra diferença estatisticamente significativa foi quanto ao teor de colesterol, ausente no cardápio “sustentável”, uma vez que essa é uma gordura de origem animal, não estando presente em alimentos de origem vegetal. No entanto, ambos os cardápios foram ineficientes no alcance da oferta mínima de alguns nutrientes, estabelecida pela legislação, como cálcio e fibras, assim como no respeito aos limites máximos de oferta permitidos para alguns nutrientes, como gordura saturada, açúcar e sódio. Considerando o alcance do PNAE, esses resultados permitem concluir que iniciativas que visam a redução da oferta de alimentos de origem animal e de alimentos ultraprocessados, além de aumento da oferta de vegetais, produzidos localmente e oriundos da agricultura familiar, podem representar uma estratégia promissora na mitigação das mudanças climáticas e na promoção de sustentabilidade social, econômica e ambiental. No entanto, é preciso investigar o impacto dessas mudanças também na saúde da população escolar.

Article

An Environmental and Nutritional Evaluation of School Food Menus in Bahia, Brazil That Contribute to Local Public Policy to Promote Sustainability

Alana Kluczkovski ^{1,2,*} , Camilla A. Menezes ³, Jacqueline Tereza da Silva ⁴ , Leticia Bastos ³, Rebecca Lait ¹, Joanne Cook ⁵, Bruno Cruz ⁶, Bruna Cerqueira ⁶, Renata M. R. S. Lago ⁷, Alexvon N. Gomes ⁷, Ana Marice T. Ladeia ⁷, Ximena Schmidt Rivera ⁸ , Nelzair Vianna ⁹ , Christian J. Reynolds ^{10,11} , Ricardo R. Oliveira ³  and Sarah L. Bridle ^{1,5} 

- ¹ Department of Physics and Astronomy, School of Natural Science, University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK; beckielait@googlemail.com (R.L.); sarah@sarahbridle.net (S.L.B.)
 - ² Department of Biology, University of York, Wentworth Way, York YO10 5DD, UK
 - ³ Postgraduate Program in Human Pathology, Postgraduate Program in Biotechnology in Health and Investigative Medicine, Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, Salvador 40296-710, Brazil; nutcamilla@gmail.com (C.A.M.); letybastosm@gmail.com (L.B.); ricardo.riccio@fiocruz.br (R.R.O.)
 - ⁴ Global Academy of Agriculture and Food Security, The University of Edinburgh, Edinburgh EH8 9YL, UK; tsilva.jacqueline@gmail.com
 - ⁵ Department of Environment and Geography, University of York, Wentworth Way, York YO10 5DD, UK; jo2cook@gmail.com
 - ⁶ School of Nutrition, Noble University Center, Feira de Santana 44001-008, Brazil; bruno-cruzz@hotmail.com (B.C.); bruna.cerqueira.t@gmail.com (B.C.)
 - ⁷ Postgraduate Program in Medicine and Human Health, Bahiana School of Medicine and Public Health, Salvador 40290-000, Brazil; lagorenata1973@gmail.com (R.M.R.S.L.); alexvongomes@yahoo.com (A.N.G.); anamarice@bahiana.edu.br (A.M.T.L.)
 - ⁸ Equitable Development and Resilience Research Group, Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Design and Physical Science, Brunel University London, London UB8 3PH, UK; ximena.schmidt@brunel.ac.uk
 - ⁹ Molecular Epidemiology and Biostatistics Laboratory, Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, Salvador 21040-900, Brazil; nelzair.vianna@fiocruz.br
 - ¹⁰ Centre for Food Policy, City University of London, Northampton Square, London EC1V 0HB, UK; c.reynolds@sheffield.ac.uk
 - ¹¹ Department of Geography, University of Sheffield, Sheffield S10 2TN, UK
- * Correspondence: alana.kluczkovski@york.ac.uk; Tel.: +44-755-579-5922



Citation: Kluczkovski, A.; Menezes, C.A.; da Silva, J.T.; Bastos, L.; Lait, R.; Cook, J.; Cruz, B.; Cerqueira, B.; Lago, R.M.R.S.; Gomes, A.N.; et al. An Environmental and Nutritional Evaluation of School Food Menus in Bahia, Brazil That Contribute to Local Public Policy to Promote Sustainability. *Nutrients* **2022**, *14*, 1519. <https://doi.org/10.3390/nu14071519>

Academic Editor: Klaus Kraemer

Received: 28 January 2022

Accepted: 24 March 2022

Published: 6 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Aimed at improving the quality of school meals, the Sustainable School Program (SSP) implemented low-carbon meals, twice a week, in 155 schools of 4 municipalities, reaching more than 32,000 students. This study evaluated the environmental impact and nutritional viability of this intervention for this population. The 15 most repeated meals from the conventional and sustainable menus were selected, and we considered the school age group and number of meals served per student/day. Nutritional information was calculated using validated food composition tables, nutritional adequacy was assessed using National School Feeding Program (PNAE) requirements, the level of processing was considered using NOVA classification, and greenhouse gas emissions (GHGE) were estimated using food life cycle assessment (LCA) validated data. We found both conventional and sustainable food menus are equivalent, in terms of nutrients, except for calcium, iron, and magnesium. Sustainable food menus were cholesterol-free. However, there was a reduction of up to 17% in GHGE, depending on the school age group analysed. Considering the greater energy efficiency and lower environmental impact of these food menus, the SSP, therefore, demonstrates that a substantial reduction in climate impact is feasible, successful, and can be an inspiration to other regions globally.

Keywords: climate change; GHGE; plant-based diets; public school meals; nutrition; diet quality; children health; sustainable school program; healthy citizen; food provision

1. Introduction

More than a quarter of the global greenhouse gas emissions (GHGE) are emitted by the food system [1], while malnutrition is one of the main sources of mortality in the world [2,3]. The increasing threat of climate change will likely affect agriculture, hence endangering food security [4]. Furthermore, rising sea levels and frequent flooding will adversely impact communities living close to the coastal area [4]. Additionally, malnutrition, due to lack of access and availability of affordable and culturally relevant nutritious food, could lead to higher consumption of cheap, low-quality, processed food, with high contents of unhealthy ingredients, such as sugar, salt, and fat, putting pressure on the health system, with non-communicable diseases requiring expensive and regular health treatments [5].

Sustainable food production needs to promote agricultural practices, not only with lower GHGE, but also those supporting local biodiversity, resource efficiency, and the welfare of the population, in terms of quality, affordability, and accessibility to the product, which is essential for countries to meet the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) [4,6].

Whilst current efforts and school curriculums aim at promoting actions that reduce the anthropogenic impacts on climate change, for example, through reducing vehicle use and turning out lights, research investigating the impacts of animal agriculture on climate change have shown how efforts focused on reducing climate-impactful foods in diets are the key to decrease GHGE [7] and can drastically overpower other common strategies (such as turning off lights, etc.). For instance, a reduction of 46% (primary energy demand) and 60% (blue water footprint) on environmental impacts was found [8].

The Brazilian National School Feeding Program (PNAE) is Brazil's longest-standing public policy, promoting food security by contributing to the bio-psychosocial development and educational achievement of students, as well as by meeting their nutritional needs while in the classroom and supporting the formation of healthy habits through food and nutrition education [9]. The program's large coverage and innovative design act also to strengthen family farming, while promoting access to adequate and healthy diets in all public and community schools in the basic education system, from day care, kindergarten, elementary school, and high school to education for young adults [10]. The program was created in a time when hunger and undernutrition was a main problem. Therefore, its main aim was to offer around 15% of children's nutritional needs. In 2018, PNAE benefited 40 million students in Brazilian public schools [11]. If we add up the students from private schools, this number will be much higher. Therefore, acting at schools has the power to reach a broad population, with the possibility to implement long-term behaviour change. However, with the nutritional transition and the current global syndemic of undernutrition, obesity, and climate change, the role of the program should be rediscussed as so to offer meals that will face multiple challenges.

The Sustainable School Program (SSP), or "Programa Escola Sustentável", is an initiative of the State Public Ministry of Bahia, whose main objective is to monitor school meals by fostering actions consistent with the right to adequate and inclusive food, health prevention, quality education, and protection of the environment. In 2018, a pilot program was implemented, with the objective of improving the quality of school meals, through the redesign of conventional menus and progressive adoption of menus constituted, preferably with ingredients of vegetable origin that are produced by the local rural family entrepreneurs. In 2019, sustainable meals were implemented, twice a week, in 155 schools of four municipalities in the semi-arid region, with low human development index, impacting more than 32,000 students.

This study assesses the potential environmental benefits of transforming school food menus from conventional to sustainable, all whilst ensuring that nutritional requirements were met. With schools being an environment rich in learning and personal development, it is paramount to ensure that the lessons taught, both inside and outside of the classrooms, are useful and engaging. The climate crisis has highlighted the social and environmental responsibility of those delivering the information, to not only appropriately convey the severity of the climate crisis, but to share the ways in which each individual can positively affect their level of impact on the environment. Therefore, this study has developed educational materials to fulfil this social and environmental responsibility by enabling the nutritionists and students to calculate the GHGE of the school meals, thus being a tool to provide continuous improvements of current and future food menus, as well as resources for food climate change education.

2. Materials and Methods

This section presents a detailed description of how school food menus were sampled, as well as the nutrition and environmental impact calculated. Descriptions of the development of educational resources and ethical aspects is also found below.

2.1. School Food Menus

In 2019, nutritionists prescribed and implemented food menus for students, from nursery, pre-school, elementary, secondary, young adults, and adults, in 200 school days, in the municipal school system of the following four cities in the state of Bahia: Barrocas, Biritinga, Serrinha, and Teofilândia. Due to the differences between the number of meals offered per day for the different groups of students, items that make up the menus, and quantities of *per capita* consumption, it was decided to analyse the menus separated into two categories: Group 1—nursery and pre-school (0 to 5 years old); Group 2—elementary, secondary, young adult, and adult education (from 6 years old). Menus were defined based on a sample consisting of the 15 most repeated meals of Group 1 (whose students make three meals per day at school) and 10 from Group 2 (whose students make two meals per day at school), which were selected from each menu entitled conventional that contained foods of animal origin (implemented three times a week), as well as the one entitled sustainable, exclusively composed of plant-based foods (implemented twice a week). These 30 meals of Group 1 and 20 meals of Group 2 were gathered on four menus, defined as: Group 1 conventional menu; Group 1 sustainable menu; Group 2 conventional menu; Group 2 sustainable menu; this enables the comparison of nutritional content and environmental impact, as well as the statistical analysis. A summary of the menus is displayed in Table 1.

2.2. Nutritional Content

The evaluation of the meals' nutritional composition was conducted using the online software Dietbox[®], using the Brazilian Institute of Geography and Statistics food composition table, prepared by the Brazilian Institute of Geography and Statistics [12] and completed with support for nutritional decision [13], in the case of missing items. To assess nutritional adequacy, the requirements described in Annex III of Resolution CD/FNDE No. 26 [14]. The resolution specifies the minimum daily offer of total calories, carbohydrates, proteins, lipids, fibres, vitamins A and C, calcium, iron, magnesium, and zinc in school meals. It also determines maximum levels allowed for saturated fat, sugar, and sodium. Despite not being determined or suggested by the legislation, it was decided to include the amounts of cholesterol and vitamin B12 in this analysis, using the reference values recommended by the Institute of Medicine (US)—Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, as well as its panel on folate, other B vitamins, and choline [15,16].

Table 1. Conventional and sustainable weekly menus, according to age group, selected for this analysis.

Day of the Week	Conventional	Sustainable
Group 1		
Monday	Meal 1: Latte + Sweet potato Meal 2: Lettuce and tomato salad + Pasta with sardine sauce + Carrot Meal 3: Mango juice + Carrot cake + Banana	Meal 1: Peanut milk + Cassava Meal 2: Beans + Pasta with soya mince + Potato with carrot + Guava juice Meal 3: Mango juice + Bread with peanut butter + Banana
Tuesday	Meal 1: Oatmeal porridge + Papaya Meal 2: Rice + Beans + Chicken + Mashed potatoes + Guava Meal 3: Flavoured whole milk yogurt + Bread with margarine	Meal 1: Acerola juice + Sweet corn coconut pudding Meal 2: Lettuce salad + Rice + Beans + Okra and pumpkin soya chunks casserole Meal 3: Vegetable soup with soya mince
Wednesday	Meal 1: Acerola juice + Cassava with pulled beef Meal 2: Rice + Beans + Fish fillet with potato + Mango Meal 3: Latte + Sweet potato with egg + Papaya	Meal 1: Vegetable soup with soya mince + Finger rolls Meal 2: Rice + Couscous with vegetables and soya mince + Guava juice Meal 3: Papaya and apple smoothie + Cream cracker
Thursday	Meal 1: Latte + Couscous Meal 2: Rice + Beans + Minced beef with potato and carrot + Watermelon Meal 3: Guava juice + Coconut cookies	Meal 1: Banana and apple smoothie + Soya mince sandwich Meal 2: Rice + Black beans and vegetables casserole Meal 3: Plant-based Shepherd's pie + Apple
Friday	Meal 1: Banana and apple smoothie Meal 2: Lettuce salad + Muleteer Beans with jerked beef + Braised kale Meal 3: Omelet + Apple	Meal 1: Banana and papaya smoothie + Coconut cake Meal 2: Lettuce and tomato salad + Rice and black-eyed beans with soya mince, carrot, pumpkin and kale Meal 3: Mango juice + Vegetable couscous
Group 2		
Monday	Meal 1: Vegetable and chicken soup + Banana Meal 2: Latte + Couscous with pepperoni	Meal 1: Beans and vegetable soup Meal 2: Vegetable couscous + Banana
Tuesday	Meal 1: Mashed potato + Beef bolognese pasta + Watermelon Meal 2: Hot chocolate + Cream cracker	Meal 1: Rice + Vegetables and soya chunks casserole Meal 2: Soya mince sandwich + Watermelon
Wednesday	Meal 1: Acerola juice + Cream cracker with guava jam + Papaya Meal 2: Latte + Sweet corn pudding	Meal 1: Acerola juice + Cream cracker with peanut butter Meal 2: Cornmeal porridge + Papaya
Thursday	Meal 1: Sweet rice pudding Meal 2: Pasta with tomato sauce + Diced chicken breast	Meal 1: Sweet rice pudding Meal 2: Mango juice + Soya mince + Bolognese pasta
Friday	Meal 1: Muleteer beans with jerked beef + Braised kale Meal 2: Latte + Bread with fried egg + Apple	Meal 1: Black beans and vegetables casserole + Cassava flour Meal 2: Guava juice + Coconut cake + Apple

Details of ingredients list and per capita consumption are in the Supplementary Information Section (S3).

A qualitative evaluation of the school meals was conducted using the NOVA classification system, which classifies foods into four groups, based on their level of processing [17]. Group 1 is composed of unprocessed and minimally processed foods, such as fruits, vegetables, legumes, cereals, pulses, milk, eggs, and meat. In this group, foods are consumed raw or require simple processing, such as cooking and pasteurization. Group 2 includes processed culinary ingredients, such as oils, butter, lard, sugar, and salt. In Group 3, they are processed foods, such as salted meat, fruit jellies, fish, grains, and canned vegetables. They are usually produced by adding Group 2 substances to Group 1 foods and using preservation methods, such as canning and bottling. Group 4 comprises of ultra-processed foods, which are formulations of ingredients, mostly for exclusive industrial use, produced through a series of industrial processes that include the fractionation of whole foods into isolated substances and frequent use of additives, to increase or reduce the content of a certain nutrients and improve the sensory characteristics of the final product. This group includes soft drinks, cookies, ice cream, margarine, sliced bread, etc.

2.3. Environmental Impact

From the analysis of school food menus, the amount of emissions from the conventional and sustainable menus were calculated on a school calendar year. To accurately calculate the GHGE values of the menus, it was essential to build a strong foundation by extracting the GHGE values of the individual ingredients from reliable sources. The databases used were [18,19]. These values were used to generate a table to display the relevant information for each food. Since the data provided in the scientific papers and databases was calculated for a generalised portion size, each value was adjusted to account for the specific size of each meal. GHGE were calculated in kilograms of carbon dioxide equivalent per year (kg CO₂e/year). The results of these calculations allowed the emission values for both the conventional and sustainable menus to be compared, such that further analysis could be conducted to calculate the potential benefits in emission reductions, as a result of choosing a sustainable menu over a conventional version. In addition, this approach allows for scaling up the results and identifies the potential benefits of increasing the number of sustainable days at school, according to the SSP design.

2.4. Public Engagement Component

Educational resources were developed to inform and engage the school community, as well as to raise awareness on the impact food has on the environment. A booklet was created, which presented information about food sustainability; the step-by-step methodology of the GHGE calculations, including a table with the food ingredients analysed in the school food menus, as well as the GHGE values associated with each food. To accompany the booklet, a GHGE menu calculator, containing the calculation method, was created using the web-based Google Docs editor and Google Sheets, which was made available to the participant schools of the SSP. A tutorial video was created to explain how to use the booklet, along with the calculator.

2.5. Statistical Analysis

The nutritional content and impacts to climate change (GHGE), regarding the conventional and sustainable food menus, were described as median and interquartile range, separated for Groups 1 (nursery and pre-school) and 2 (elementary, secondary, young adult, and adult education). Differences between conventional and sustainable menus in each group were tested using the Kruskal-Wallis test. The analysis was performed using the R software, version 4.1.0 [20].

2.6. Ethical Aspects

This study is part of the research entitled “Evaluation of an intervention project in school meals on the health of children and adolescents in the hinterland of Bahia” (CAAE: 91282318.3.0000.5544), approved by the Ethics Committee in Research with Human Beings of Bahiana School of Medicine and Public Health, on September 17/2018, under the opinion of number 2.962.623, as determined by resolution CNS 466/2012.

3. Results

3.1. School Meals

Table 1 shows the four food menus, consisting of the most frequently repeated meals for each group, which were created to allow the comparative analysis of the nutritional content and GHGE among the conventional and sustainable recipe options.

To preserve the nutritional content of the meal, the sustainable menu replaced animal-based products (meats, dairy products, and eggs) with legumes (soya and peanuts). In both food menus, the cereals and tubers group varied between preparations, such as bread and cake (wheat), couscous (corn), rice, cassava, and yams. Additionally, the fruits and vegetables group contained both fresh fruits, juices, and smoothies, as well as raw and cooked vegetables. The sustainable food menu included preparations that represent a reinterpretation of those presented in the conventional food menu, such as the replacement

of cow's milk with peanut milk in the same preparations (smoothie and porridge). It also contained typical preparations of the local food culture, some examples were "Black beans casserole", "Rice and black-eyed beans", and "Sweet corn coconut pudding", which are commonly accepted by children and young adults; there were also adaptations of classical meals, such as "soya mince sandwich" (a version of the hot dog) and "Sweet rice pudding", made free of animal-based ingredients.

3.2. Nutritional Content and Qualitative Evaluation

As seen in Table 2, among the food menus for Group 1, the sustainable menu contains more total calories, lower protein, and more fibre than the conventional one, which is a common characteristic of plant-based diets. However, it also presented less carbohydrates, more added sugar, and provided more total fat (but less saturated fat); additionally, it was naturally cholesterol-free. Regarding micronutrients, the sustainable food menu has more iron, magnesium, and vitamin A, as well as less sodium, calcium, zinc, and vitamins C and B12. Among the food menus for Group 2, it was observed that the sustainable menu seemed to contain fewer total calories and protein (see Table 2). It also presented more carbohydrates and added sugar, as well as less total fat (but more saturated fat) than the conventional food menu, besides being naturally cholesterol-free and containing more fibre. Regarding micronutrients, the sustainable food menu presented less sodium and more magnesium, vitamin A, vitamin C, and iron; however, it also contained less calcium, zinc, and vitamin B12.

Table 2. Nutritional content, as median (p_{25} ; p_{75}), of the conventional and sustainable food menus, according to the age group.

Nutrient	Group 1			Group 2		
	Conventional	Sustainable	p Value	Conventional	Sustainable	p Value
Energy, kcal	1115.65 [897.49; 1171.88]	1146.15 [986.72; 1184.79]	0.754	713.47 [625.4; 748.58]	587.11 [524.64; 644.34]	0.117
Carbohydrates, g/1000 kcal	146.87 [123.85; 157.35]	144.94 [143.33; 161.72]	0.754	135.12 [115.16; 140.47]	151 [140.52; 175.65]	0.175
Protein, g/1000 kcal	32.55 [28.49; 42.14]	29.37 [26.16; 30.04]	0.175	37.02 [34.74; 43.11]	29.76 [29.06; 34.07]	0.117
Total fat, g/1000 kcal	29.46 [28.51; 39.72]	38.54 [32.17; 38.85]	0.465	37.58 [31.24; 45.63]	30.99 [30; 38.03]	0.602
Saturated fat, g/1000 kcal	12.6 [10.87; 16.44]	11.58 [8.87; 12.56]	0.347	11.74 [10.99; 15.46]	13.13 [8.38; 14.19]	0.602
Cholesterol, mg/1000 kcal	110.71 [102.64; 284.07]	0 [0; 0]	0.005	92.53 [76.17; 107.92]	0 [0; 0]	0.007
Fiber, g/1000 kcal	11.28 [8.99; 13.2]	15.26 [13.61; 16.28]	0.076	8.47 [3.69; 10.22]	10.81 [10.15; 21.67]	0.175
Added sugar, g/1000 kcal	25.6 [22.28; 40.34]	34.9 [29.54; 36.79]	0.754	23.98 [20.04; 24.92]	36.16 [0; 41.43]	0.916
Sodium, mg/1000 kcal	1908.22 [1612.69; 1912.33]	1830.43 [1723.08; 2087.48]	0.917	1930.95 [1764.69; 2037.05]	1069.16 [1065.83; 2002.03]	0.602
Calcium, mg/1000 kcal	342.92 [311.32; 478.6]	182.04 [180.87; 191.27]	0.009	461.94 [437.42; 533.8]	192.68 [171.79; 314.31]	0.009
Iron, mg/1000 kcal	6.24 [6.22; 6.85]	8.46 [7.74; 9.09]	0.047	7.31 [3.65; 8.31]	7.82 [7.37; 11.38]	0.295
Magnesium, mg/1000 kcal	111.32 [104.89; 126.39]	162.15 [152.4; 184.71]	0.076	112.48 [112.09; 126.22]	142.12 [130.45; 172.09]	0.047
Zinc, mg/1000 kcal	4.47 [4.2; 5.06]	2.71 [2.59; 3.16]	0.175	5.17 [3.18; 5.66]	2.04 [1.96; 2.27]	0.117
Vitamin A, mcg/1000 kcal	580.36 [560.69; 667.56]	1338.17 [1291.71; 1584.11]	0.076	214.14 [213.86; 272.96]	1841.13 [1188.3; 2167.75]	0.175
Vitamin C, mg/1000 kcal	118.61 [59.71; 180.11]	113.51 [95.84; 140.21]	0.754	45.91 [43.01; 74.5]	197.91 [84.23; 239.22]	0.347
Vitamin B12, mcg/1000 kcal	2.15 [1.58; 3.3]	1.15 [1.08; 1.53]	0.076	1.94 [1.6; 1.98]	1.63 [0.81; 2.98]	0.917

Group 1: Nursery and preschool; Group 2: Elementary, secondary and youth, and adult education. Numbers in bold show statistically significant differences (p value < 0.05).

Table 2 presents the median, percentiles 25th and 75th, of the nutritional content of each food menu for different food groups. The only statistically significant differences (p value < 0.05) between the conventional and sustainable menus were found in the iron content for Group 1 and magnesium content for Group 2, with the sustainable food menu presenting higher levels (both p values = 0.047); in the case of calcium, the conventional food menu presented higher content in both groups (p value = 0.009). As expected, the other significant difference was observed in the cholesterol content (Group 1, p value = 0.005; Group 2, p value = 0.007), with higher levels on the conventional food menu because it is an animal origin fat and naturally free on plant-based menus. Data are shown in Table 2.

The sustainable food menu, planned for students of Group 1, presented a lower amount of calories from unprocessed foods and higher caloric share of processed and ultra-processed foods, when compared to the conventional one, as shown in Figure 1. On the other hand, in the food menus planned for Group 2, the situation is reversed; the sustainable had a higher caloric share of unprocessed foods, as well as a lower share of processed and ultra-processed foods. It is important to remark that, in all menus, for all groups, the unprocessed foods account for over 58% of the calories.

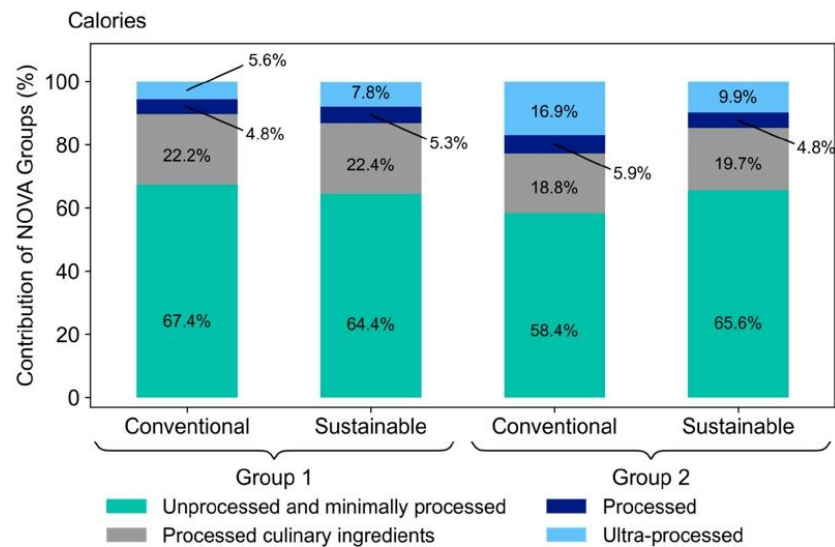


Figure 1. Share (%) of NOVA food groups to total calories in conventional and sustainable menus. Graph shows the contribution of NOVA food groups—unprocessed and minimally processed (teal), processed culinary ingredients (grey), processed (navy), and ultra-processed (light blue) food types; Group (1): nursery and pre-school; Group (2): primary, secondary, young adult, and adults.

3.3. Nutritional Adequacy

According to the NSFP resolution, in force in 2019 [14], menus applicable to nursery and full-time pre-schools (Group 1 in this study), which include three meals a day, must offer at least 70% of the daily nutritional needs of students and, at most, 10% of total calories from saturated fat. For schoolchildren up to 3 years old, the addition of sugar to preparations is prohibited and, for those aged 4 years and over, the supply of added sugar is limited to 10% of total calories. Based on these criteria, it is observed in Figure 2 that both the conventional and sustainable menu for Group 1 met, and sometimes exceeded, the total calories needed of each student. In terms of carbohydrates, the sustainable menu met everyone's demand, but the conventional was insufficient for those aged between 4 and 5 years old. Both menus reached the protein and total fat needed by all students; however, they exceeded the maximum acceptable levels of saturated fat. The same happened with the added sugar content. As it does not contain animal origin foods, the sustainable menu is naturally cholesterol-free; however, the conventional one was also adequate in this criterion for all age groups. For fibres, the conventional menu does not provide sufficient amounts for all age groups, and the sustainable one is below the needs for students between 4 and 5 years old.

Additionally, in accordance with the current legislation [14], menus applicable to elementary, secondary, youth, and adult education units (Group 2 in this study) that contain two meals a day must provide at least 30% of the daily nutritional needs of schoolchildren, with at most 10% of total calories from saturated fat and 10% from added sugar. Based on

these criteria, Figure 2 demonstrates that, of the menus applied to Group 2, the conventional met the total calorie needs of almost all students, except those between 16 and 18 years old. The sustainable menu was only enough to meet the needs of students from 6 to 10 years old, falling for the other age groups. A similar situation occurred for proteins, with the conventional being sufficient to meet the demand of all students and sustainable only for those aged 6 to 10 years old. In terms of carbohydrates, both menus only met the needs of students aged 6 to 10 years, being insufficient for the other age groups. For total fat, both menus contemplated the needs of all age groups; however, they exceeded the maximum acceptable levels of saturated fat for all ages. The same happened with the added sugar content. The cholesterol content of the conventional menu was higher than acceptable for all age groups, while the sustainable menu was naturally free. For fibres, the conventional menu can be considered inadequate for all age groups, as well as the sustainable menu for students between 6 and 10 years old.

Figure 3 represents the adequacy of menus, in relation to the nutritional needs of students, in terms of micronutrients. For Group 1, i.e., students who eat three meals a day at school, the maximum sodium content allowed by current legislation for the menu is 1400 mg. It is possible to observe that both menus exceeded this limit for all age groups. The zinc content of the conventional menu met the needs of all students, while the sustainable one proved to be insufficient for those between 4 and 5 years old. For calcium, the conventional menu did not meet the needs of students aged 4 to 5 years, while the sustainable menu proved inadequate for those aged between 1 and 5 years. In terms of iron, the sustainable menu was sufficient to meet the needs of all students, while the conventional one was effective only for those aged between 1 and 3 years. Both menus met the needs of vitamins A, C, and B12, as well as magnesium, for all students, despite the absence of foods from the groups of meat, dairy, and eggs in the sustainable menu, which can be explained by the presence of fortified foods.

For Group 2, students who eat three meals a day at school, the maximum sodium content allowed by current legislation for the menu is 600 mg. Figure 3 shows that, equally, both menus exceeded the maximum sodium limits allowed for all age groups. The zinc content of the conventional menu met the needs of all students, while the sustainable one proved insufficient for all ages. For calcium, the conventional menu did not meet the needs of students aged 11 to 18 years old, while the sustainable one proved inadequate in all age groups. Both menus proved to be adequate, in terms of iron, vitamin A, and vitamin C in all age groups. Regarding the magnesium content, the sustainable menu was sufficient to meet the demands of students aged 6 to 15 years, while the conventional one proved to be even less efficient, serving only students aged 6 to 10 years. Both menus proved to be sufficient to meet the nutritional needs of vitamin B12 for the same reason previously described.

In general, it is possible to observe that both menus have limitations in meeting the recommendations for many nutrients, especially the minimum intake limits for protein, fibre, calcium, and zinc, as well as the maximum intakes for saturated fats, cholesterol, sugar, and sodium, being recommended adjustments to suit the target audience. A complete list of Nutritional targets for the menus according to age group is available on Table S1—Supplementary Materials.

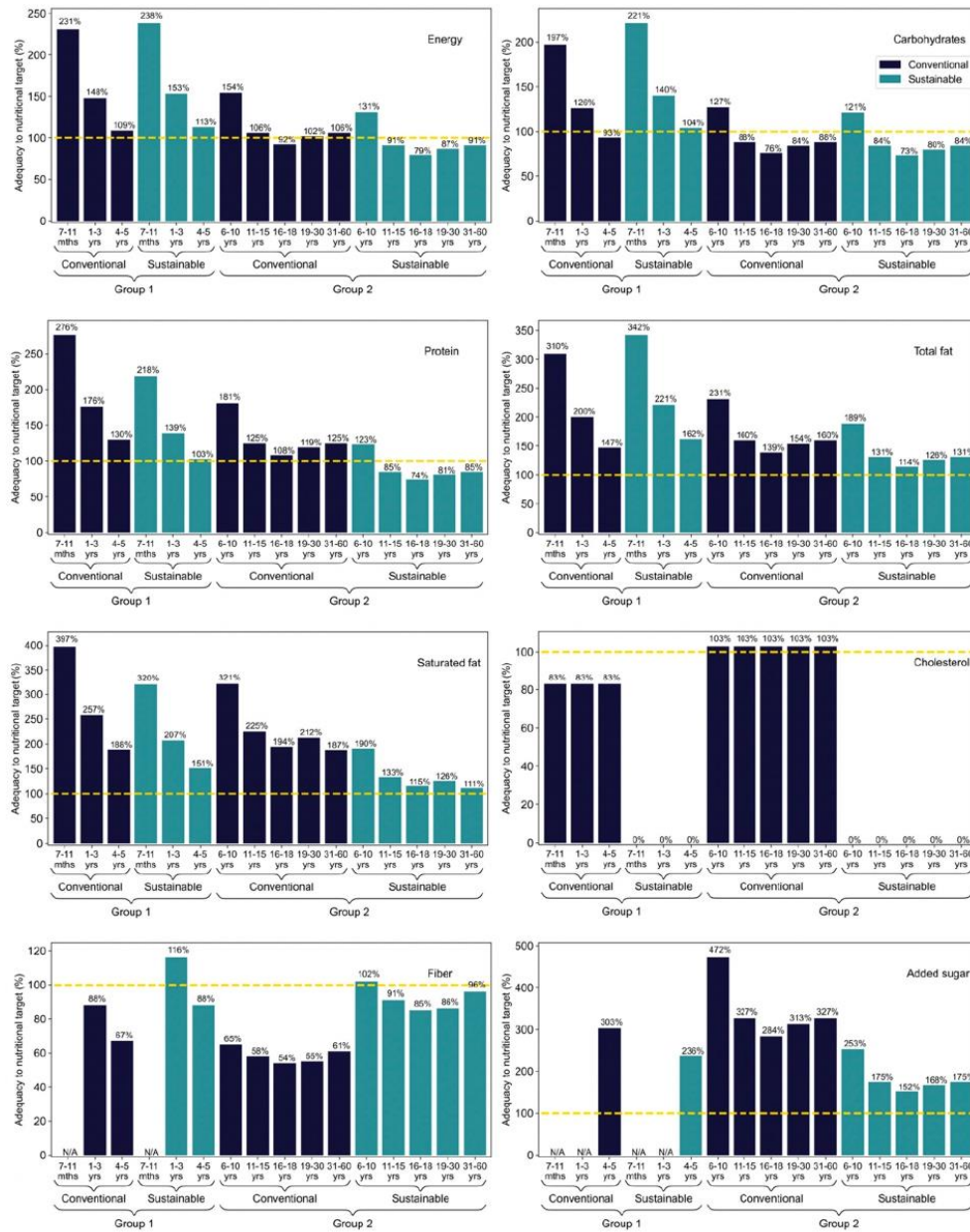


Figure 2. Macronutrient adequacy of conventional and sustainable menus to nutritional targets, according to the age group. Age groups considered were from 7 months to 60 years old, for both school food menus. Yellow dashed line represents the national daily nutritional recommendation for school meals (Group 1 is 70%, and Group 2 is 30% of the daily intake). For saturated fat, cholesterol, and added sugar, the daily nutritional recommendation refers to a maximum level. N/A means no official recommendations for this age group. Mths and yrs on the X axis mean months and years, respectively.

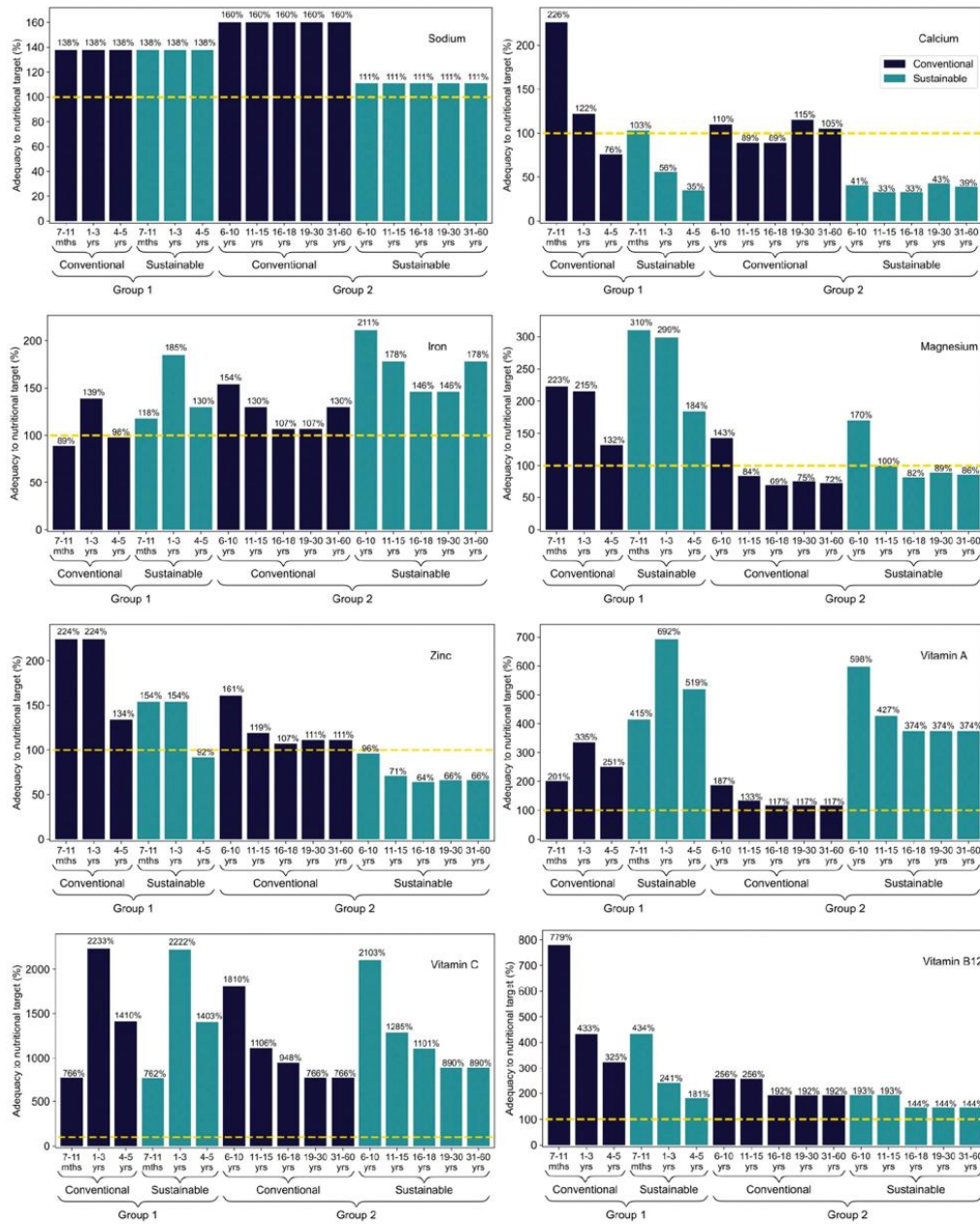


Figure 3. Micronutrients adequacy of conventional and sustainable menus to nutritional targets, according to the age group. Age groups considered were from 7 months to 60 years old, for both school food menus. Yellow dashed line represents the national daily nutritional recommendation for school meals (Group 1 is 70%, and Group 2 is 30% of the daily intake). For sodium, the daily nutritional recommendation refers to a maximum level. N/A means no official recommendations for this age group. Mths and yrs on the X axis mean months and years, respectively.

3.4. Environmental Impact

The GHGE of the sustainable school food menus were lower, when comparing them with the conventional school food menus, for both age groups analysed in this study—Group 1: $p = 0.047$; Group 2: $p = 0.036$ (Figure 4). The percentage of sustainable days, where menus were implemented, increased progressively during the year 2019, as shown in Figure 5 (detailed data showing the total GHGE per year and the list of ingredients and *per capita* amount of menus are available on Tables S2 and S3—Supplementary Materials). In the first semester, the sustainable food menu made up 20% of the total menus served to students in both groups. This amount increased to 40% in the second semester. Conventional food menus had a higher amount of GHGE, when compared to sustainable food menus, for both groups analysed (Figure 5). It is worth noting that, in 2018, the SSP only had planning actions for the implementation of school menus for the following year. Thus, in the first year of the program's execution, the menus were still 100% conventional. A difference in absolute values was verified when analysing the emission values for Groups 1 and 2, with Group 1 having a higher value, due to a greater number of meals, compared to Group 2.

Following the original planning for progressive implementation of the SSP (which was not possible due to the COVID-19 pandemic), projections of the total emission values of the two types of food menus were calculated for both groups, as shown in Figure 5. The projections presented a decrease in the total amount of emissions, with the implementation of more sustainable days on the menus in both groups.

Figure 5 shows the contribution of sustainable food menus in the total GHGE per year, according to the implementation plan of the SSP, which progressively increases the percentage of sustainable food menus through the years. It started with 0% sustainable days to progressively reach 80%. It was observed that the total amount of GHGE decreased with the increase of sustainable food menus. As shown in Figure 5, adopting a sustainable menu four days a week reduces the GHGE from 400 kg CO₂e/year to 240 kg CO₂e/year for nursery and preschool menus, as well as from 242 kg CO₂e/year to 132 kg CO₂e/year for primary and secondary school menus.

The percentage decrease in the total GHGE produced per year, based on the implementation of more sustainable food menus, rather than conventional menus, is shown in Figure 6. By analysing these results, it was found that, the higher the use of the sustainable menus, the lower the greenhouse gas emission, for both school age groups. Moreover, starting from a 100% conventional menu in 2018 and moving to two days a week in 2019 reduced GHGE by 15% for school Group 1 and 17% for school Group 2. By increasing the ratio of the use of sustainable to conventional menus further, a reduction of 40% and 45% was to be expected in 2021, according to the school age group, due to the adoption of sustainable menus four days a week.

3.5. Public Engagement Component

As a part of disseminating information, and to positively engage with the school community, educational resources that focused on food sustainability and the calculation of GHGE were created. Datasets containing the environmental impacts of a diverse range of foods were carefully evaluated to extract their GHGE values and input them into an instructive booklet (Figure 7a).

Additionally, introducing the idea of global warming and effect on the climate to the reader, this booklet explained how food choices can have such an effect on this issue. An accompanying calculator (Figure 7b) and tutorial video were also created, in order to enable the public to independently calculate their own GHGE values for their meals. While the calculator (Figure 8a) allowed for the input of ingredients and their associated GHGE values, as found in the booklet, the tutorial video was designed to guide the public, step-by-step, on how to input this information into the calculator. Figure 8b shows the model spreadsheet, built in Portuguese, the language used in all educational materials produced in this study.

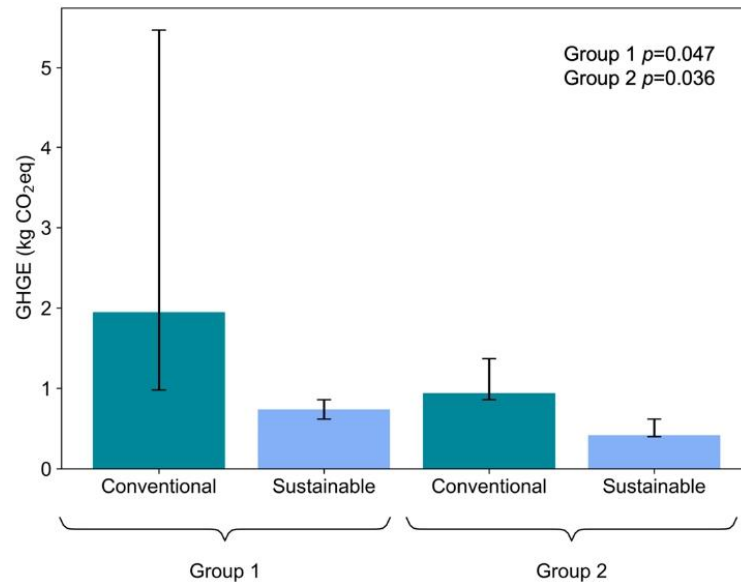


Figure 4. The GHGE value between sustainable and conventional school food menus. The GHGE expressed per year in kg CO₂e for the two different food menu types targeted in this study. The graph shows the *p* value for both groups, and the error bars represent *p*₂₅, *p*₇₅ for each school food menu. See Section 2.1 for the classification of groups.

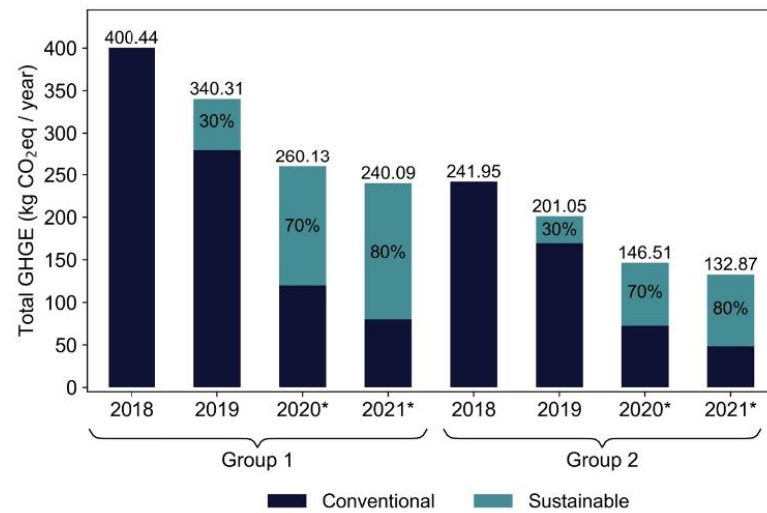


Figure 5. The total GHGE of school menus, including the contribution of sustainable and conventional food menus. The figure compares the estimated GHGE produced per year (in kg CO₂e), between the two different food menu types targeted in this study. The percentages represent the amount of food menus being sustainable in each year, with 100% equivalent to 5 days a week. * The graph shows the projections for the years 2020 and 2021, following the implementation plan of the SSP; in 2018, there were no sustainable food menus.

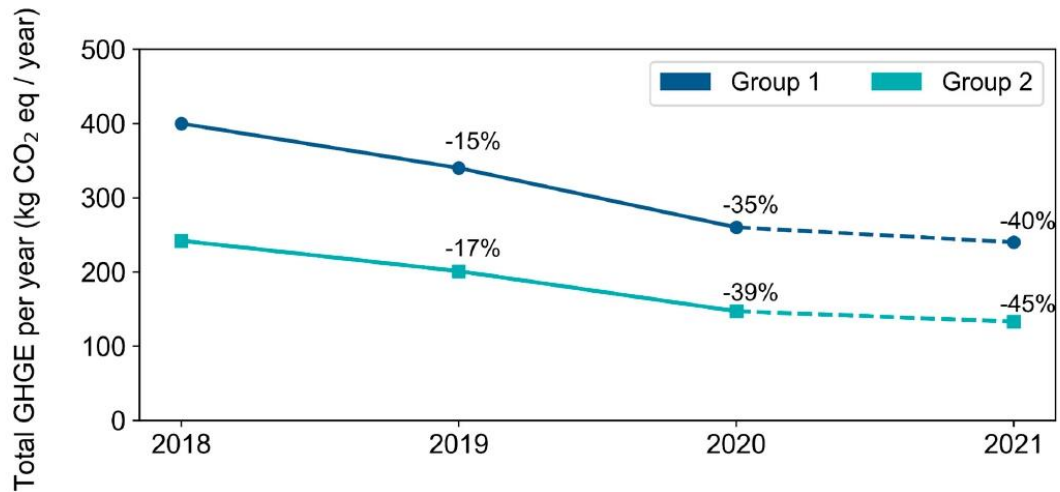


Figure 6. The percentage decrease in the total GHGE produced per year. The figure shows the total estimated GHGE produced per year in kg CO₂e, based on the implementation of the specific ratios of conventional-to-sustainable food menus for both age groups. The graph shows projections for the years 2020 and 2021, following the implementation plan of the SSP.

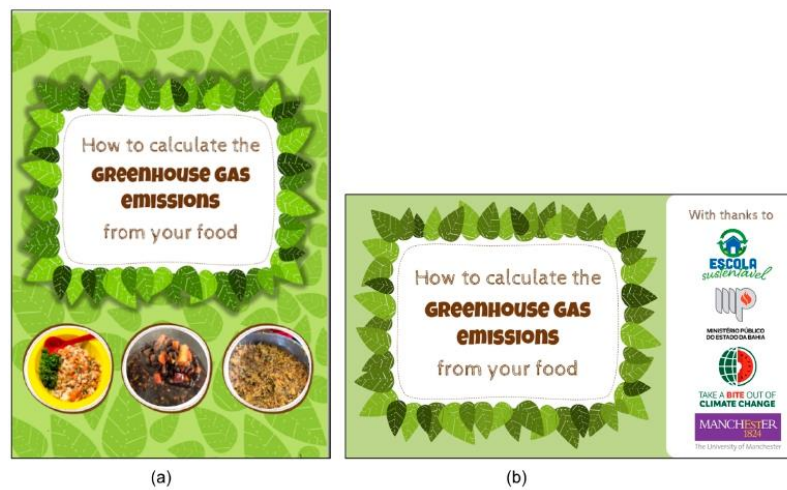


Figure 7. Educational resources developed in this study. Figure shows: (a) the booklet containing baseline information on GHGE, as well as tables of food ingredients and associated GHGE; (b) tutorial video explaining how to calculate GHGE from food.

Model Spreadsheet							
Recipe number	Type of food	Ingredients	Amount unit (g/ml)	The portion size (g/ml)	Amount of GHG emissions per kg or litre	GHG emissions for the given portion size	Total GHG emissions for the meal
1	Banana	Banana	g	86	1.3863	0.1192218	0.1192218
2	Peanut milk	Peanuts	g	100	1.333	0.1333	
		Tap water	ml	160	0	0	0.1333
3	Mango Juice	Tap water	ml	200	0	0	0.067595
		Mango	g	50	0.2119	0.010595	
		Sugar	g	15	3.8	0.057	

(a)

Model Spreadsheet							
Número da receita	Tipo de alimento	Ingredientes	Unidade de quantidade (g/ml)	Tamanho/quantidade da porção (g/ml)	Quantidade de emissões de GEE por kg ou litro	Emissões de GEE para o tamanho da porção dada	Emissões totais de GEE para a refeição
1	Banana	Banana	g	86	1.3863	0.1192218	0.1192218
2	Leite de amendoim	Amendoim	g	100	1.333	0.1333	0.1333
		Água potável	ml	160	0	0	
3	Suco de manga	Água Potável	ml	200	0	0	0.067595
		Manga	g	50	0.2119	0.010595	
		Açúcar	g	15	3.8	0.057	

(b)

Figure 8. Educational calculator. Figure shows: (a) the calculator in Google spreadsheet in English, with the GHGE calculation example for banana, peanut milk, and creamy pudding; (b) the same spreadsheet in Portuguese.

4. Discussion

School is considered a potential environment for health promotion, as well as for nutritional, environmental, and humanitarian education. School feeding, especially in Brazil, where it is supported by the largest and oldest public food and nutrition security policy in the country, is a strategic tool for promoting health, in addition to promoting environmental, economic, and social sustainability. According to the Food and Agriculture Organization (FAO), a sustainable diet should have a low environmental impact and contributing to high standards of food safety and health for future generations [21]. Of the nine planetary limits that need to be respected, in order to allow life on the planet, four of those that have already been exceeded are strongly related to food production and consumption. They are the biochemical flux of nitrogen and phosphorus, integrity of biodiversity, alteration of the earth system, and climate change. The ocean acidification limit is close to the uncertainty level [22]. Agricultural systems are responsible for 78% of the pollution of rivers and oceans, the use of freshwater in agriculture represents 70% of global water abstraction [23], and the food supply chain represents 26% of GHGE [19]. The reason for this impact seems to be the long food system, focused on the production of animals for consumption [24]. As vegetables represent a shorter production system, if coming from agroecological, local, and unprocessed production, plant-based diets can be considered more sustainable than diets containing animal products [25].

The concept of the global obesity, malnutrition, and climate change syndemic suggests that these three conditions may have the same origin, i.e., the unsustainability of food systems. While they contribute to the depreciation of natural resources, they also encourage unfair and unequal food distribution and provide the population with food of low nutritional quality, creating so-called “food deserts”, which contributes to food and nutrition insecurity globally. Data from the national Household Budget Survey reveal that Brazil follows the secular global trend of reduction in the prevalence of thinness and an increase in overweight and obesity in the school-age population [26]. More recently, the ERICA study [27] pointed to an even more alarming situation between Brazilian children and adolescents, i.e., the growing prevalence of comorbidities, such as metabolic syndrome (2.6%), hypercholesterolemia (20.1%), and systemic arterial hypertension (9.6%),

even though specific nutritional deficiencies are still considered public health problems in this population.

According to the EAT–Lancet Commission, the path to feeding a future population of 10 billion people with a healthy diet, within the limits of the planet, requires that food production practices be revised, as well as that new food consumption patterns be encouraged. The suggestion is a reduction of at least 50% in the consumption of meat and sugar, as well as an increase of more than 100% in the consumption of vegetables by the year 2050 [2]. WHO, as part of its campaign to control childhood obesity, recommends, among other strategies, the participation of schools in promoting healthy eating habits [28]. The strategy promoted by the SSP, to optimize nutritional content and reduce GHGE, was to reduce the supply of meat, dairy products, and eggs, as well as to increase the supply of vegetables in school meals, implementing a menu entirely plant-based, once a week, during 2019, and predict a gradual enhancement of four times a week over a two-year period.

The results of the present study demonstrate that, despite this effort to promote acceptability and preserve nutritional viability, it was observed that the sustainable food menu, in general, has a lower frequency of fresh fruits and vegetables, as well as lesser diversity of foods and preparations. Additionally, a relevant aspect that hindered the comparative assessment between food menus, in terms of variety, is the difference in the format of meals, which did not follow a pattern (starter, main course, and dessert), and sometimes presented itself as a complete meal and sometimes as a snack, varying between one and three items, depending on the meal.

Regarding the nutritional aspects, sustainable menus seem to present more added sugar content than conventional ones. This could be partially explained because, in the sustainable menu, preparations such as yogurt (industrially sugared) or portions of fresh fruits (with natural sugar) were replaced by juice and smoothies, which mostly often require added sugar. A higher amount of total fat was also observed in the sustainable menu for Group 1. This fat profile could be due to the amount of peanut and soy recipes, which are rich in unsaturated fat. For Group 2, the sustainable menu presented more saturated fat, which may be explained by the use of recipes with coconut milk, such as sweet rice pudding and coconut cake, since coconut is rich in vegetable saturated fat. The lower content of vitamin B12 in the sustainable menus was expected, since this nutrient is found only in animal products and industrially fortified foods. Despite this, there was no statistically significant difference in the nutritional content between the preparations belonging to the conventional menu and those from the sustainable menu, except for the calcium, magnesium, iron, and cholesterol content.

Another important aspect is the presence of processed and ultra-processed foods in both menus, as the literature shows the risks of consumption to health [29,30]. Among animal products, processed meat has been identified as a major risk factor for the development of cancer in humans, so that limited evidence suggests that unprocessed red meat has a certain level of risk and is considered as a probable carcinogen in humans [31,32]. Although presenting processed and ultra-processed foods, the planned sustainable menus were free of animal origin foods from these groups. The conventional menu for Group 1 presented a higher frequency of foods from the group of meat, dairy, and eggs in unprocessed form than processed and ultra-processed. When replaced by foods such as soya and peanuts, which have a high protein concentration, with fewer calories than the meat group, it automatically reduces the percentage value of calories from unprocessed foods and increases the caloric participation of the other groups, unnecessarily representing a higher frequency of food groups. In Group 2 menus, the conventional meals presented processed and ultra-processed meats, in addition to unprocessed meats. When replaced by soya and peanuts, it automatically reduced the percentage value of calories from processed and ultra-processed foods and increased the caloric share of other groups.

Considering that one of the objectives of the SSP was the prevention of non-communicable chronic diseases, it is possible to suppose that the sustainable menu has a more interesting profile, since it is more effective in meeting fibre needs and respecting the maximum intake

limits for saturated fat, cholesterol, and added sodium, when compared to the conventional menu. In addition to appearing more effective, from a nutritional aspect, the sustainable menu presented lower GHGE. This reduction highlights the impact changing foods has on climate change. This information provides an environmental evidence base to implement sustainable strategies and target where interventions have the most impact.

The menu designed to represent the conventional preparations most offered to students in Group 1 emitted an average of 1950 g CO₂e/day, while the one, which represented the sustainable preparations, emitted 740 g CO₂e/day. In the menus for Group 2, this reduction was from 940 to 420 g CO₂e/day, similar to the results achieved by the model proposed for school feeding in Italy [33]. School menus from across the country were evaluated, and 194 preparations (70 starters, 83 main courses, 39 side dishes, 1 part fruit, and 1 part bread) were used to create sustainable menus, based on a mathematical model that associates nutritional adequacy, probable acceptability, and lower GHGE. The result was a 4-week menu, containing more vegetables, which were not only part of the side dishes, but of the starters and main courses, as well as less animal products, especially red meat. This menu would be able to meet the nutritional needs of the target audience (students from 6 to 11 years old) and has 525 g CO₂e/day. Another mathematical model was devised to create a 4-week menu for Spanish elementary school, based on 2800 possible combinations of preparations, between 20 starters, 20 main courses, and 7 desserts, suggested by professional meal planners [34]. The result was a 20-day menu, with 15% lower cost and 24% less GHGE, when compared to those recommended by national guidelines. It is important to highlight that these studies created menus based on mathematical models, in order to serve as a basis for implementing intervention studies. They appear to be effective in reducing GHGE and costs, besides being nutritionally adequate, but intervention studies are needed to assess criteria such as acceptability and food waste.

In Stockholm, Sweden, an intervention in school feeding was carried out in three primary schools, with the implementation of a 4-week menu, containing two meals a day, totaling 40 meals, in which six were plant-based. This menu emitted 497 g CO₂e/day, while the previous one emitted 829 g CO₂e/day (40% reduction). In addition, the optimized one was 14% lower cost, and there was no significant difference, regarding the acceptability and food waste criteria, between the pre- and post-intervention period [35]. A similar result was found in the experience that took place in the city of Barcelona, Spain. To promote healthier and more sustainable diets, low-carbon meals were implemented in all schools and public canteens in the city. The meals contained seasonal, organic, and locally produced foods, in addition to a reduction in animal origin food (especially red meat) and ultra-processed products. Compared to conventional menus, there was a 53% reduction in GHGE. The intervention proposed by the SSP was responsible for the reduction of up to 17% of GHGE in 2019 and could reach 45%, if implemented four times a week. The Spanish experience has also shown reductions of 60% in water footprint, 46% in primary energy demand, and 48% in land use, in addition to increasing the nutritional content of meals by up to 47% [8].

Plant-based diets, if well planned, are nutritionally appropriate for all stages of the life cycle, and can contribute to the prevention and treatment of chronic, non-communicable diseases [36]. A study that evaluated 20 systematic reviews and meta-analyses of observational and intervention studies demonstrated that plant-based diets are more related to positive health outcomes, such as better lipid profile and body mass index, as well as less associated with negative outcomes, such as ischemic diseases, diabetes, and cancer [37]. The Brazilian Ministry of Health, through the Dietary Guidelines for the Brazilian Population, states that encouraging the consumption of animal origin food can bring risks to human and planetary health, and suggests a reduction in consumption [38]. Although the results of this study demonstrate that, except for calcium, there is no difference in the nutritional content between menus containing foods of animal and plant-based origin, they also pointed out the inadequacies in meeting the nutritional needs of students. In general, both menus need adjustments in total energy, as well as the distribution of macro

and micronutrients to be considered suitable for the target audience. The greater offer of other legumes (besides soy and peanuts), as well as fruits, vegetables, and seeds, could bring more diversity to the menus and variety among preparations. However, changes in menus need to be linked to nutritional education actions and acceptance evaluation, in order to avoid food waste, since the literature shows low acceptance among Brazilian teenagers [39–42].

In this study, it was possible to create public engagement tools to promote nutritional and environmental education. However, it was not possible to assess the impact of implementing these tools in the school community, for example, in reducing food waste, which suggests future studies. Another limitation of this study was the evaluation of conventional and sustainable preparations, through the creation of menus that brought together the most repeated meals throughout the 2019 school year. A future study could also evaluate the menus implemented throughout the whole school year, as well as the food baskets offered to families, due to the suspension of face-to-face activities, during the COVID-19 pandemic.

The new NSFP resolution, implemented in 2020, brings some changes in the specifications of the nutritional characteristics of school meals. Among them is the mandatory supply of heme iron at least four times a week [43]. As this nutrient is only found in animal origin foods, this means that school meals can be plant-based only once a week, and other days should include food from the meat, dairy products, and eggs groups. Even so, as demonstrated by the studies presented, it is possible to design school menus that meet nutritional recommendations and, at the same time, present lower GHGE.

It is essential that food guides include environmental aspects and advise society to adopt healthy practices that are within planetary limits, such as diets with a low carbon footprint, serving as a basis for promoting effective public policies to achieve the Sustainable Development Goals [44]. This issue has been discussed, since 2014, by the Dietary Guidelines for the Brazilian Population, which, despite including the group of meats, dairy products, and eggs, in the context of healthy eating, describes that the decrease in demand for animal origin foods significantly reduces GHGE, deforestation (resulting from the creation of new pasture areas), and intense use of water [38]. Planetary health has been considered a new discipline, and it should not be dissociated from human health by health professionals and public health policies. This is an imperative measure to fulfil the international agenda of 45% reduction in GHGE in 10 years, achieving the 17 Sustainable Development Goals by 2030 and carbon neutrality by 2050 [45].

The results of this work provided evidence to caterers and policymakers on how menus can be changed, in conjunction with effective co-developed education programmes, thus reducing the climate impact of food. This study is our first foray into calculating school menu climate impacts and, therefore, provides a pilot for our work in other settings. In addition, it could be usefully carried out in other regions of Brazil, as well as other countries.

5. Conclusions

This study has analysed the redesign of school food menus, from nutritional and environmental perspectives. The school food menus were similar. However, the conventional presented higher content of calcium and lower amounts of iron and magnesium. Another significant difference observed was the cholesterol content, with the sustainable menu being cholesterol-free. The environmental impact of the implemented sustainable food menu showed a reduction in GHGE. Projections for implementing more sustainable days showed a substantial reduction in GHGE. This highlights the importance of food choices, with regard to relieving humans' impact on the climate crisis, as well as how we can effectively and appropriately deliver this information to children, in order to ensure the next generation of students are well-informed and knowledgeable about the importance of this topic. To empower and encourage students and nutritionists to calculate their own GHGE from food, educational materials (tutorial video and booklet) were produced. These resources ensure the dissemination of the program (and of this study), as well as the part that science plays in informing society of its findings. We have demonstrated that the

sustainable diets programme has reduced total climate impacts by 15–17%. Due to the nutritional adequacy of the menus, they have considerable potential to reduce environmental impacts in Brazil and beyond.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu14071519/s1>. Table S1: Nutritional targets for the menus according to the age group. Table S2: Total GHGE per year in Kg of CO₂e of school food menus according to the age group and percentage of menus being sustainable. Table S3: List of ingredients and *per capita* amount of conventional and sustainable school food menus.

Author Contributions: Conceptualization—wrote the main research proposal from which this manuscript is part of, S.L.B., A.K., C.J.R., X.S.R., J.T.d.S. and C.A.M.; designed the scope of this manuscript, A.K. and C.A.M.; methodology—developed the methodology, C.A.M., A.K., S.L.B., C.J.R. and R.R.O.; formal analysis—conducted formal data analysis, A.K., C.A.M., R.L., J.T.d.S., B.C. (Bruna Cerqueira), B.C. (Bruno Cruz) and L.B.; visualization—developed the visualizations and data visualization, R.L., A.K. and J.C.; resources—developed the educational resources, A.K. and R.L.; writing—original draft preparation, A.K., C.A.M., L.B., R.L. and J.T.d.S.; writing—review and editing, A.K., R.L., J.T.d.S., S.L.B., C.J.R., X.S.R., C.A.M., R.M.R.S.L., A.N.G., A.M.T.L., R.R.O. and N.V.; funding acquisition, S.L.B., A.K., C.J.R. and X.S.R.; project administration and team supervision, A.K., R.R.O., S.L.B., C.J.R. and X.S.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: A. Kluczkowski was supported through a University of Manchester GCRF fellowship, funded through the University of Manchester Internal Research England GCRF QR fund. X. Schmidt was supported through Brunel University Internal Research England GCRF QR fund. During the organisation of this research, J. T. da Silva, S. Bridle, and C. Reynolds were supported, in part, through the STFC GCRF funded project “Trends in greenhouse gas emissions from Brazilian foods using GGDOT” (ST/S003320/1).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee in Research with Human Beings of Bahiana School of Medicine and Public Health (protocol code 2.962.623 and date of approval: 17 September 2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Acknowledgments: We thank the ‘The Take a Bite out of Climate Change’ advisory board for advice and ideas that shaped the study. We thank the Public Ministry of Bahia for connecting the public health professionals and education secretaries, as well as for enabling this research team to work with the Sustainable School Program. We thank the education departments of the municipalities involved (Barrocas, Biritinga, Serrinha, and Teofilândia), as well as their respective nutritionists, responsible for the National School Feeding Program.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Crippa, M.; Solazzo, E.; Guizzardi, D.; Monforti-Ferrario, F.; Tubiello, F.N.; Leip, A. Food systems are responsible for a third of global anthropogenic GHG emissions. *Nat. Food* **2021**, *2*, 198–209. [CrossRef]
2. Swinburn, B.A.; Kraak, V.I.; Allender, S.; Atkins, V.J.; Baker, P.I.; Bogard, J.R.; Brinsden, H.; Calvillo, A.; De Schutter, O.; Devarajan, R.; et al. The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report. *Lancet* **2019**, *393*, 791–846. [CrossRef]
3. *2020 Global Nutrition Report: Action on Equity to End Malnutrition*; Development Initiatives: Bristol, UK, 2020.
4. FAO. *The State of Food and Agriculture 2016: Climate Change, Agriculture and Food Security*; 9789251093740; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2017.
5. GBD Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* **2017**, *390*, 1345–1422. [CrossRef]
6. Pérez-Escamilla, R. Food Security and the 2015–2030 Sustainable Development Goals: From Human to Planetary Health: Perspectives and Opinions. *Curr. Dev. Nutr.* **2017**, *1*, e000513. [CrossRef] [PubMed]
7. Springmann, M.; Clark, M.; Mason-D’Croz, D.; Wiebe, K.; Bodirsky, B.L.; Lassaletta, L.; de Vries, W.; Vermeulen, S.J.; Herrero, M.; Carlson, K.M.; et al. Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature* **2018**, *562*, 519–525. [CrossRef] [PubMed]

8. Batlle-Bayer, L.; Bala, A.; Aldaco, R.; Vidal-Mones, B.; Colome, R.; Fullana, I.P.P. An explorative assessment of environmental and nutritional benefits of introducing low-carbon meals to Barcelona schools. *Sci. Total Environ.* **2021**, *756*, 143879. [CrossRef] [PubMed]
9. Sidaner, E.; Balaban, D.; Burlandy, L. The Brazilian school feeding programme: An example of an integrated programme in support of food and nutrition security. *Public Health Nutr.* **2013**, *16*, 989–994. [CrossRef] [PubMed]
10. Kitaoka, K. The National School Meal Program in Brazil: A Literature Review. *Jpn. J. Nutr. Diet.* **2018**, *76*, S115–S125. [CrossRef]
11. Brasil. Portal Brasileiro de Dados Abertos. Alunos Atendidos pelo PNAE. Available online: <https://dados.gov.br/dataset/alunos-atendidos-pelo-pnae-2014> (accessed on 13 January 2022).
12. IBGE. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil*, 1st ed.; IBGE: Rio de Janeiro, Brazil, 2011.
13. Philippi, S.T. *Tabela de Composição de Alimentos: Suporte Para Decisão Nutricional*; Manole: Barueri, Brazil, 2012; p. 161.
14. Brasil. RESOLUÇÃO Nº 26, DE 17 DE JUNHO DE 2013. Dispõe sobre o Atendimento da Alimentação Escolar aos Alunos da Educação Básica no Âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar. 2013. Available online: <https://www.fnde.gov.br/aceso-a-informacao/institucional/legislacao/item/4620-resolu%C3%A7%C3%A3o-cd-fnde-n%C2%BA-26,-de-17-de-junho-de-2013> (accessed on 29 March 2022).
15. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*; Reports funded by National Institutes of Health; The National Academies Collection: Washington, DC, USA, 1998.
16. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*; National Academy Press: Washington, DC, USA, 2005.
17. Monteiro, C.A.; Cannon, G.; Levy, R.B.; Moubarac, J.C.; Louzada, M.L.; Rauber, F.; Khandpur, N.; Cediel, G.; Neri, D.; Martinez-Steele, E.; et al. Ultra-processed foods: What they are and how to identify them. *Public Health Nutr.* **2019**, *22*, 936–941. [CrossRef]
18. Garzillo, J.M.F.; Machado, P.P.; Louzada, M.L.d.C.; Levy, R.B.; Monteiro, C.A. *Footprints of Foods and Culinary Preparations Consumed in Brazil*; Faculdade de Saúde Pública da USP: São Paulo, Brazil, 2020.
19. Poore, J.; Nemecek, T. Reducing food’s environmental impacts through producers and consumers. *Science* **2018**, *360*, 987–992. [CrossRef]
20. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna. 2021. Available online: <http://r.meteo.uni.wroc.pl/web/packages/dplr/vignettes/intro-dplr.pdf> (accessed on 29 March 2022).
21. *Sustainable Diets and Biodiversity: Directions and Solutions for Policy, Research and Action*; FAO: Rome, Italy, 2012.
22. Steffen, W.; Richardson, K.; Rockstrom, J.; Cornell, S.E.; Fetzer, I.; Bennett, E.M.; Biggs, R.; Carpenter, S.R.; de Vries, W.; de Wit, C.A.; et al. Sustainability. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* **2015**, *347*, 1259855. [CrossRef] [PubMed]
23. FAO. *Water for Sustainable Food and Agriculture: A report produced for the G20 Presidency of Germany*; FAO: Rome, Italy, 2017.
24. Schuck, C.; Ribeiro, R. *Comendo o Planeta: Impactos Ambientais da Criação e Consumo de Animais*; Sociedade Vegetariana Brasileira: São Paulo, Brazil, 2015.
25. Willett, W.; Rockstrom, J.; Loken, B.; Springmann, M.; Lang, T.; Vermeulen, S.; Garnett, T.; Tilman, D.; DeClerck, F.; Wood, A.; et al. Food in the Anthropocene: The EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet* **2019**, *393*, 447–492. [CrossRef]
26. IBGE. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017–2018: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil*; IBGE: Rio de Janeiro, Brazil, 2020.
27. Bloch, K.V.; Klein, C.H.; Szklo, M.; Kuschner, M.C.; Abreu Gde, A.; Barufaldi, L.A.; da Veiga, G.V.; Schaan, B.; da Silva, T.L.; de Vasconcellos, M.T.; et al. ERICA: Prevalences of hypertension and obesity in Brazilian adolescents. *Rev. Saude Publica* **2016**, *50* (Suppl. S1), 9. [CrossRef] [PubMed]
28. WHO. *Report of the Commission on Ending Childhood Obesity. Implementation Plan: Executive Summary*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2017.
29. Elizabeth, L.; Machado, P.; Zinocker, M.; Baker, P.; Lawrence, M. Ultra-Processed Foods and Health Outcomes: A Narrative Review. *Nutrients* **2020**, *12*, 1955. [CrossRef] [PubMed]
30. Lane, M.M.; Davis, J.A.; Beattie, S.; Gomez-Donoso, C.; Loughman, A.; O’Neil, A.; Jacka, F.; Berk, M.; Page, R.; Marx, W.; et al. Ultraprocessed food and chronic noncommunicable diseases: A systematic review and meta-analysis of 43 observational studies. *Obes. Rev.* **2021**, *22*, e13146. [CrossRef] [PubMed]
31. *Red Meat and Processed Meat/IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2018; Volume 114, ISBN 978-92-832-0180-9, ISSN 1017-1606.
32. Bouvard, V.; Loomis, D.; Guyton, K.Z.; Grosse, Y.; Ghissassi, F.E.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Mattock, H.; Straif, K. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* **2015**, *16*, 1599–1600. [CrossRef]
33. Rossi, L.; Ferrari, M.; Martone, D.; Benvenuti, L.; De Santis, A. The Promotions of Sustainable Lunch Meals in School Feeding Programs: The Case of Italy. *Nutrients* **2021**, *13*, 1571. [CrossRef] [PubMed]
34. Ribal, J.; Fenollosa, M.L.; García-Segovia, P.; Clemente, G.; Escobar, N.; Sanjuán, N. Designing healthy, climate friendly and affordable school lunches. *Int. J. Life Cycle Assess.* **2015**, *21*, 631–645. [CrossRef]
35. Eustachio Colombo, P.; Patterson, E.; Lindroos, A.K.; Parlesak, A.; Elinder, L.S. Sustainable and acceptable school meals through optimization analysis: An intervention study. *Nutr. J.* **2020**, *19*, 61. [CrossRef] [PubMed]

36. Craig, W.J.; Mangels, A.R.; American Dietetic, A. Position of the American Dietetic Association: Vegetarian diets. *J. Am. Diet. Assoc.* **2009**, *109*, 1266–1282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Oussalah, A.; Levy, J.; Berthezene, C.; Alpers, D.H.; Gueant, J.L. Health outcomes associated with vegetarian diets: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Clin. Nutr.* **2020**, *39*, 3283–3307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. BRAZIL. *Guia Alimentar para a População Brasileira*, 2nd ed.; Ministério da Saúde: Brasília, Brazil, 2014.
39. Vale, D.; Lyra, C.O.; Santos, T.T.D.; Souza, C.V.S.; Roncalli, A.G. Acceptance of school food by Brazilian adolescents: Individual and school context determinants. *Cien. Saude Colet.* **2021**, *26*, 637–650. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Boklis-Berer, M.; Rauber, F.; Azeredo, C.M.; Levy, R.B.; Louzada, M. The adherence to school meals is associated with a lower occurrence of obesity among Brazilian adolescents. *Prev. Med.* **2021**, *150*, 106709. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Honório, O.S.; Rocha, L.L.; Fortes, M.I.C.M.; Carmo, A.S.D.; Cunha, C.D.F.; Oliveira, T.R.P.R.D.; Mendes, L.L. Consumption of school meals provided by PNAE among Brazilian public school adolescents. *Rev. Chil. Nutr.* **2020**, *47*, 765–771. [[CrossRef](#)]
42. Cesar, J.T.; Taconeli, C.A.; Osorio, M.M.; Schmidt, S.T. Adherence to school food and associated factors among adolescents in public schools in the Southern region of Brazil. *Cien. Saude Colet.* **2020**, *25*, 977–988. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Brasil. Resolução CD/FNDE nº 6, de 8 de maio de 2020. Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar. 2020. Available online: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-6-de-8-de-maio-de-2020-256309972> (accessed on 29 March 2022).
44. Costa Leite, J.; Caldeira, S.; Watzl, B.; Wollgast, J. Healthy low nitrogen footprint diets. *Glob. Food Sec.* **2020**, *24*, 100342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Whitmee, S.; Haines, A.; Beyrer, C.; Boltz, F.; Capon, A.G.; de Souza Dias, B.F.; Ezech, A.; Frumkin, H.; Gong, P.; Head, P.; et al. Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: Report of The Rockefeller Foundation–Lancet Commission on planetary health. *Lancet* **2015**, *386*, 1973–2028. [[CrossRef](#)]

6.4 RESULTADOS REFERENTES AO MANUSCRITO 4

Os resultados apresentados neste capítulo se referem ao quarto manuscrito produto da tese, a ser submetido à publicação, e respondem ao quarto objetivo específico da pesquisa - Avaliar o impacto da intervenção alimentar no contexto do Programa Escola Sustentável nas concentrações fecais de *Bifidobacterium* spp., e sua associação com os indicadores laboratoriais e antropométricos dos participantes do estudo.

Dos 190 indivíduos incluídos no presente estudo, 124 estavam localizados nos 4 municípios que aderiram ao PES (Barrocas, Biritinga, Serrinha e Teofilândia), implementado pelo MPBA no ano de 2018 e que fomentou mudanças na alimentação escolar da rede pública municipal de ensino em 2019, conforme descrito no capítulo anterior. A fim de avaliar possíveis desfechos na saúde daqueles que foram expostos ao Programa este capítulo propõe duas abordagens estatísticas. A primeira visa avaliar a população como um grupo e a segunda inclui as análises de forma pareada, antes (D0) e após a intervenção (D240). Adicionalmente, foi proposta uma análise de associação, onde os indivíduos expostos foram comparados, após a exposição, com aqueles não expostos à intervenção, estudantes da rede pública municipal de Valente (n = 66), que não fez parte do escopo do PES, ou seja, não teve modificações na alimentação escolar.

De acordo com o exposto na **Tabela 1** é possível observar que, comparando-se a ingestão alimentar do grupo no início e no final do ano letivo de 2019, não houve diferença entre o consumo de macro e micronutrientes, exceto pelo aumento significativo da ingestão de colesterol (86,3 mg/1000 Kcal; 127,6 mg/1000 Kcal; p = 0,001). A análise qualitativa demonstrou aumento significativo da participação calórica de alimentos não processados na ingestão energética total dos participantes avaliados (48%; 58%; p = 0,001). Ao investigar quais tipos de alimentos pertencentes a esse grupo teriam influenciado mais a ingestão de não processados, observou-se que houve aumento significativo da ingestão calórica de leguminosas (53 Kcal; 56 Kcal; p = 0,016) e frutas e sucos (124 Kcal; 162 Kcal; p = 0,013), dados disponíveis na **Tabela 2**.

Tabela 1 - Características do consumo alimentar de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Indicadores	Ingestão alimentar		p ²
	D0 ¹ (n=185)	D240 ¹ (n=106)	
Energia e macronutrientes			
Energia total (Kcal)	1755 (1309-2259)	1844 (1421-2366)	0,082
Carboidratos (%calórico)	53 (45-60)	52 (46-56)	0,155
Proteínas (%calórico)	13 (11-16)	14 (11-16)	0,145
Lipídeos (%calórico)	33 (28-40)	34 (31-38)	0,177
AGS (%calórico)	11 (9-14)	12 (10-14)	0,253
AG <i>Trans</i> (%calórico)	1,3 (0,9-1,8)	1,4 (0,9-2,3)	0,118
Colesterol (mg/1000 Kcal)	86,3 (60,6-148,6)	127,6 (68,0-216,6)	0,001
Açúcar total (%calórico)	20 (11-28)	18 (13-25)	0,597
Açúcar de adição (%calórico)	12 (6-19)	12 (6-18)	0,783
Fibras (g/1000 Kcal)	7,6 (6,2-9,0)	7,7 (6,7-9,3)	0,178
Micronutrientes			
Sódio total (mg/1000 Kcal)	1601 (1313-1960)	1527 (1191-1840)	0,159
Sódio de adição (mg/1000 Kcal)	395 (251-560)	415 (304-549)	0,374
Cálcio (mg/1000 Kcal)	216 (154-316)	242 (156-313)	0,403
Ferro (mg/1000 Kcal)	4,8 (3,9-5,6)	4,9 (4,2-5,8)	0,284
Magnésio (mg/1000 Kcal)	98,2 (86,8-110,0)	98,2 (87,4-114,0)	0,601
Zinco (mg/1000 Kcal)	4,9 (3,4-6,4)	4,4 (3,4-6,5)	0,884
Vitamina B12 (µg/1000 Kcal)	1,7 (1,0-2,8)	1,6 (1,0-2,6)	0,834
Vitamina D (µg/1000 Kcal)	1,59 (0,96-2,37)	1,51 (1,06-2,38)	0,846
Classificação NOVA			
Grupo 1 (%calórico)	48 (38-62)	58 (37-81)	0,001
Grupo 2 (%calórico)	13 (9-18)	12 (8-20)	0,869
Grupo 3 (%calórico)	10 (0-20)	11 (0-23)	0,647
Grupo 4 (%calórico)	21 (11-36)	19 (10-40)	0,699

¹ Mediana (intervalo interquartil); ² Teste de *Mann-Whitney*.

Valores de p em negrito demonstram diferenças estatisticamente significantes (< 0,05).

D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019; AGS: ácidos graxos saturados; AG *Trans*: ácidos graxos trans; Classificação NOVA – Grupo 1 (alimentos não processados); Grupo 2 (ingredientes culinários processados); Grupo 3 (alimentos processados); Grupo 4 (alimentos ultraprocessados).

Tabela 2 - Consumo de alimentos não processados de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

NOVA Grupo 1 Alimentos não processados	Ingestão alimentar		p ²
	D0 ¹ (n=185)	D240 ¹ (n=106)	
Cereais (Kcal)	196 (71-330)	225 (101-369)	0,200
Leguminosas (Kcal)	53 (23-93)	56 (44-107)	0,016
Verduras e legumes (Kcal)	10 (4-41)	10 (3-30)	0,327
Frutas e sucos (Kcal)	124 (0-249)	162 (84-301)	0,013
Carnes, laticínios e ovos (Kcal)	334 (213-500)	352 (211-515)	0,889

¹ Mediana (intervalo interquartil); ² Teste de *Mann-Whitney*.

Valores de p em negrito demonstram diferenças estatisticamente significantes (< 0,05).

D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019.

Já a análise pareada revelou que houve aumento do consumo de energia total ($p = 0,047$), ácidos graxos saturados ($p = 0,024$) e, da mesma forma, colesterol ($p < 0,0001$), conforme demonstrado na **Figura 1**. Sobre o aspecto qualitativo, também houve aumento da participação calórica de alimentos não processados ($p < 0,0001$), no entanto, nesse caso os alimentos que mais influenciaram foram cereais ($p = 0,034$) e leguminosas ($p = 0,016$), dados disponíveis na **Figura 2**.

A avaliação laboratorial do grupo demonstrou que não houve diferença da abundância fecal de BIF, antes e após a intervenção na alimentação escolar, assim como da prevalência de hiperglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e deficiência de ferro, vitamina D e vitamina B12 (**Tabela 3**). No entanto, foi observada redução da prevalência de hemoglobina baixa (8%; 2%; $p = 0,036$). No caso da análise pareada, observou-se aumento dos níveis séricos de hemoglobina ($p < 0,0001$) e redução de LDL-colesterol ($p < 0,0001$). Porém, houve aumento dos níveis de triglicérides ($p < 0,0001$) e redução da vitamina D ($p < 0,0001$), conforme demonstrado na **Figura 3**. Os indivíduos diagnosticados com deficiência de ferro, vitaminas D e B12 no D0 foram orientados ao tratamento com reposição medicamentosa e foram excluídos dessas análises.

A **Tabela 4** descreve os indicadores antropométricos da população investigada e é possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre esses parâmetros no período avaliado. Na análise pareada disponível na **Figura 4** observa-se elevação da estatura ($p < 0,0001$), do peso ($p < 0,0001$) e da CC ($p = 0,005$), acompanhados de redução da RCE ($p < 0,0001$).

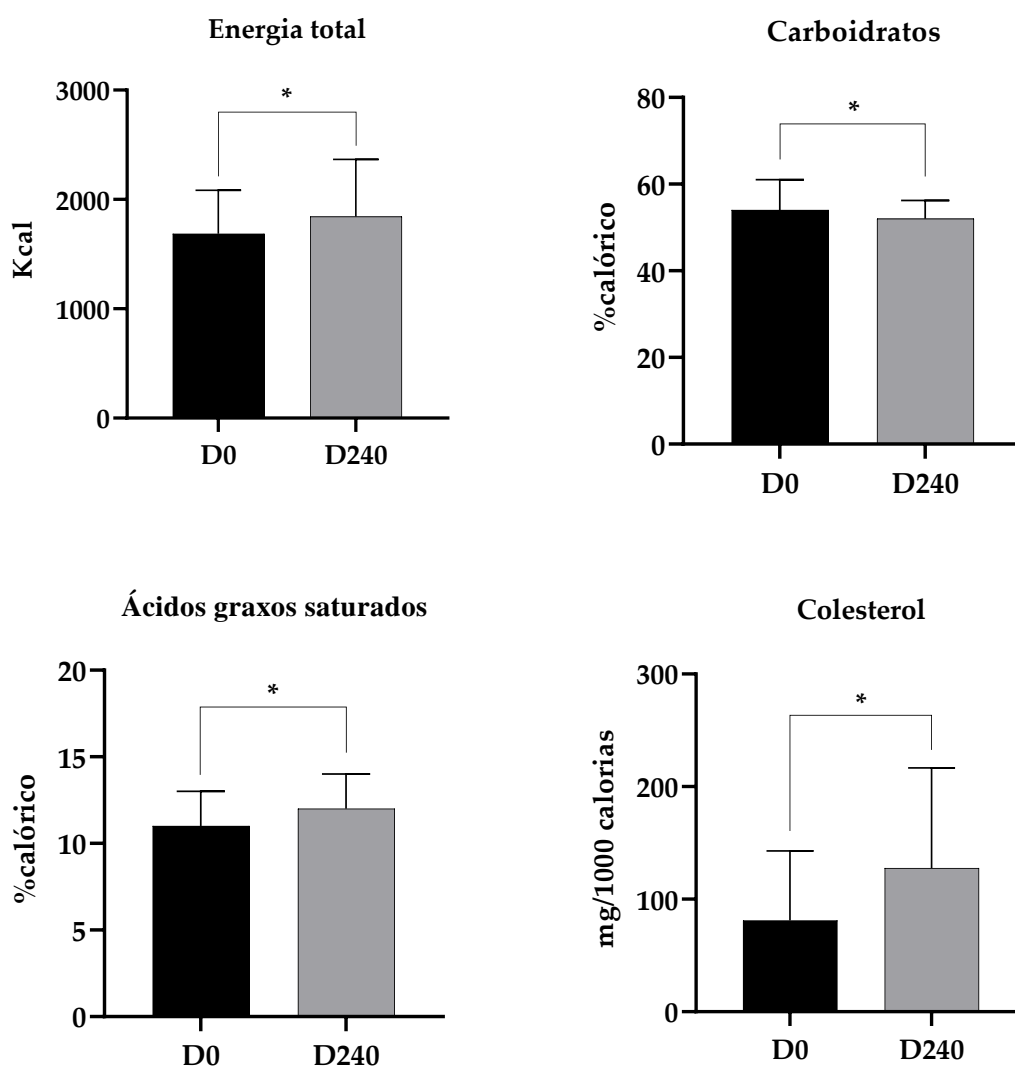


Figura 1 – Análise pareada das características quantitativas do consumo alimentar de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Testes estatísticos: Teste de *Wilcoxon* pareado. *Diferença estatisticamente significante ($p < 0,05$). D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019.

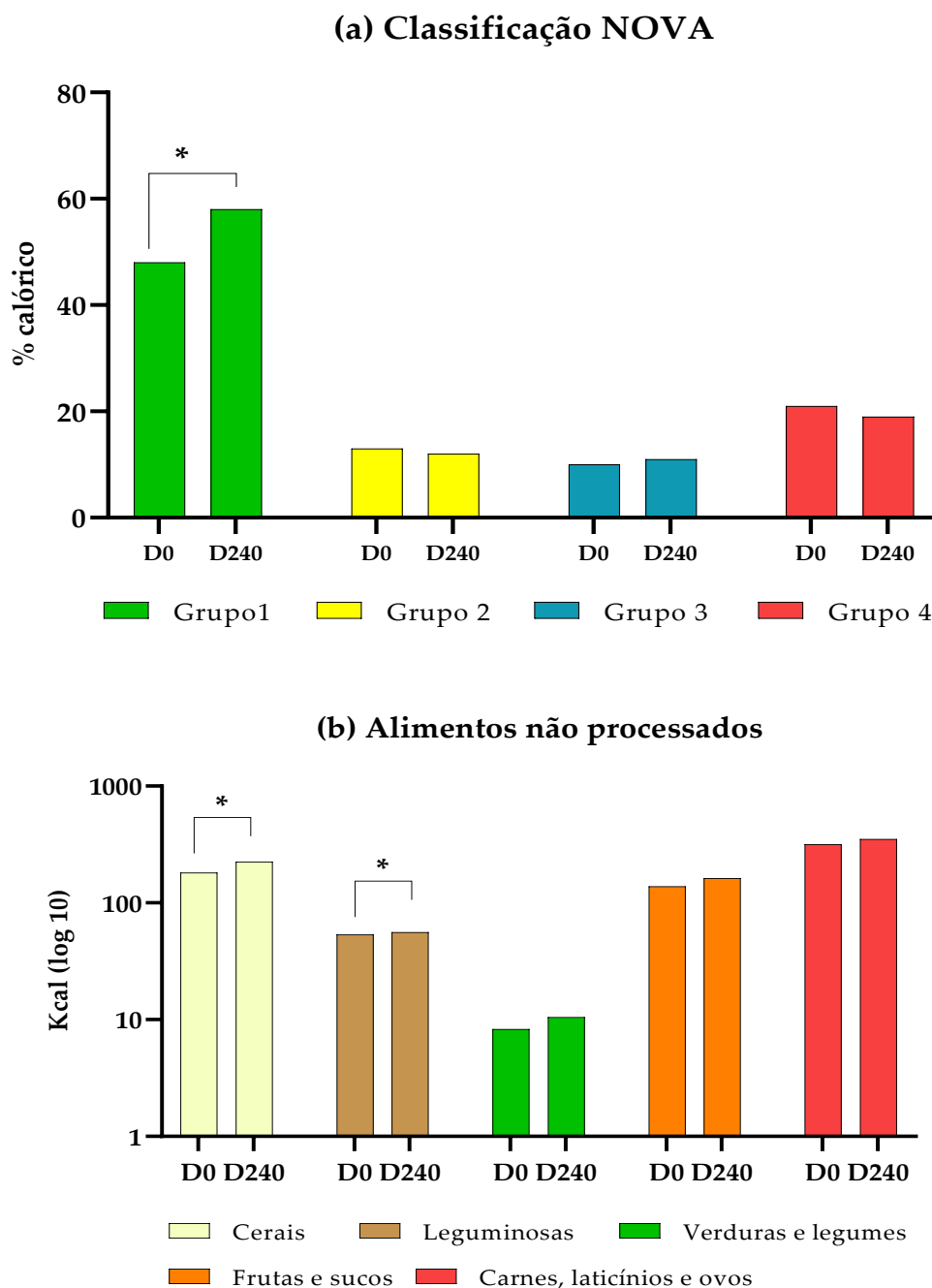


Figura 2 – Análise pareada das características qualitativas do consumo alimentar de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

(a): Participação calórica de cada grupo alimentar da classificação NOVA – Grupo 1 (alimentos não processados); Grupo 2 (ingredientes culinários processados); Grupo 3 (alimentos processados); Grupo 4 (alimentos ultraprocessados). (b): Participação calórica (log 10) de cada tipo de alimento do grupo dos alimentos não processados. Teste estatístico: Teste de Wilcoxon pareado. *Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019.

Tabela 3 - Características laboratoriais de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Indicadores	Achados laboratoriais		
	D0 ¹ (n=190)	D240 ¹ (n=124)	p
Hemoglobina baixa	15 (8%)	2 (2%)	0,036³
Ferritina baixa	8 (5%)	7 (7%)	0,787 ³
Deficiência de vitamina D	1 (1%)	2 (2%)	0,598 ³
Deficiência de vitamina B12	25 (14%)	8 (9%)	0,327 ³
Glicemia de jejum elevada	11 (6%)	3 (4%)	0,561 ³
Colesterol total elevado	22 (12%)	7 (7%)	0,221 ³
LDL-Colesterol elevado	14 (8%)	2 (2%)	0,059 ³
Triglicerídeo elevado	31 (17%)	27 (26%)	0,092 ³
<i>Bifidobacterium</i> spp. (REU)	794 (135-1905) ²	1096 (257-2803) ²	0,123 ⁴

¹ n (%); ² mediana (intervalo interquartil); ³ Teste exato de Fisher; ⁴ Teste de Mann-Whitney.

Valores de p em negrito demonstram diferenças estatisticamente significantes (< 0,05).

D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019; REU: Unidade de Expressão Relativa.

Valores de referência para os parâmetros laboratoriais: Hemoglobina baixa (meninas de 5 a 12 anos < 11,5 g/dL, meninas de 12 a 19 anos < 12 g/dL, meninos < 13 g/dL); Ferritina baixa (< 15 µg/L); Glicemia de jejum elevada (≥ 100 mg/dL); Colesterol total elevado (≥ 200 mg/dL); LDL-colesterol elevado (≥ 130 mg/dL); Triglicerídeo elevado (5 a 10 anos ≥ 100 mg/dL; 11 a 19 anos ≥ 150 mg/dL); Deficiência de vitamina B12 (< 200 pg/mL); Deficiência de vitamina D (< 20 ng/mL).

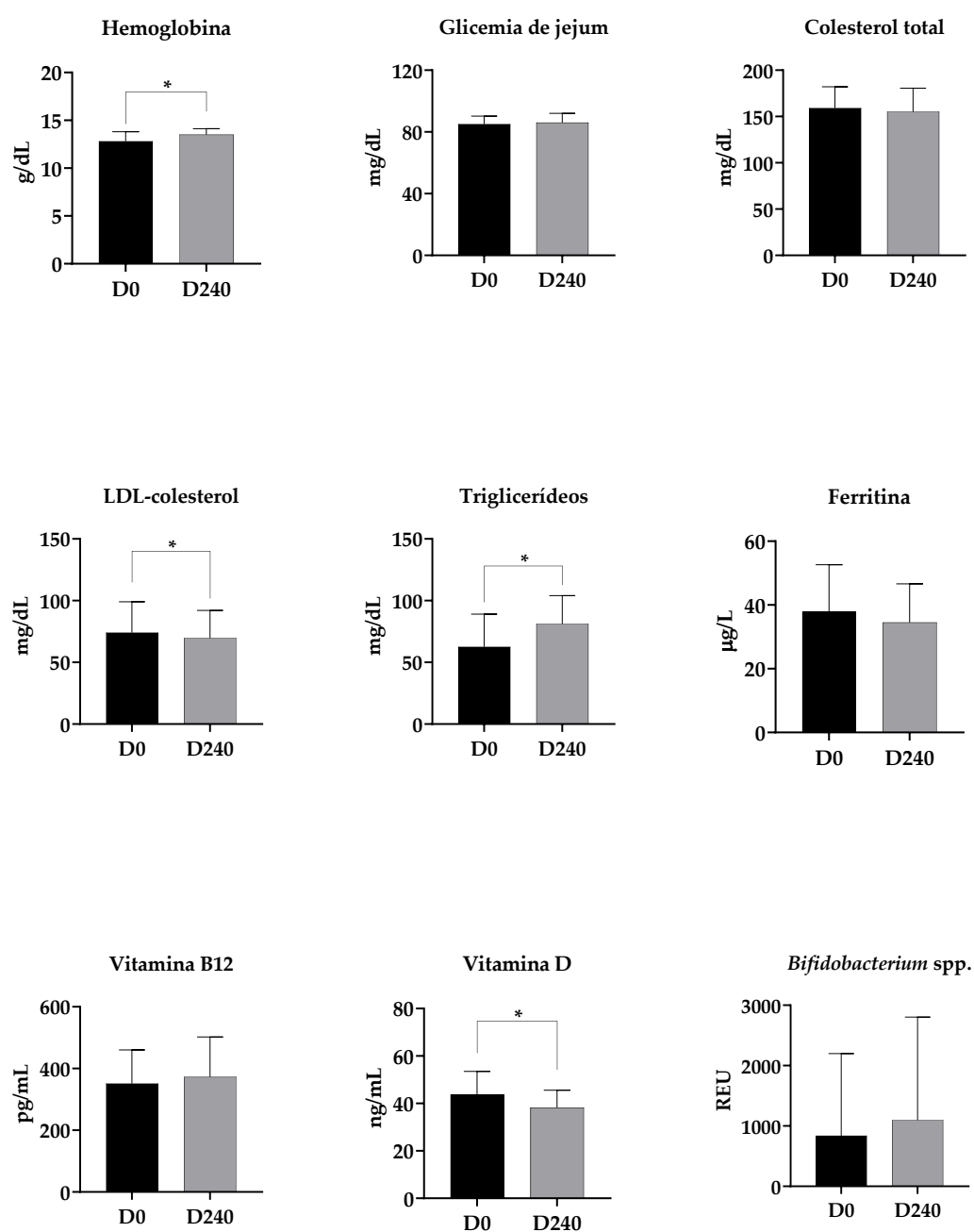


Figura 3 – Análise pareada das características laboratoriais de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Teste estatístico: Hemoglobina (Teste t de *Student* pareado); demais (Teste de *Wilcoxon* pareado). *Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019. O indicador sérico de vitamina D avaliado foi o circulante (25-OH-vitamina D3).

Tabela 4 – Características antropométricas de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Indicadores	Achados antropométricos		
	D0 ¹ (n=190)	D240 ¹ (n=124)	p
Estatura (m)	1,39 (1,26-1,53)	1,44 (1,28-1,58)	0,079 ²
Peso (Kg)	32,9 (25,4-45,5)	36,1 (26,3-48,2)	0,265 ²
Índice de Massa Corporal (Kg/m ²)	16,9 (15,0-19,6)	16,6 (15,0-20,1)	0,971 ²
Estado nutricional			
Magreza acentuada	2 (1%)	0 (0%)	0,382 ³
Magreza	8 (4%)	5 (5%)	
Eutrofia	113 (61%)	66 (63%)	
Sobrepeso	32 (17%)	11 (11%)	
Obesidade	12 (7%)	12 (11%)	
Obesidade grave	19 (10%)	11 (10%)	
Circunferência da cintura (cm)	59 (54-67)	61 (55-68)	0,377 ²
Relação Cintura-Estatura	0,43 (0,40-0,46)	0,42 (0,40-0,45)	0,187 ²
Risco cardiovascular	17 (9%)	10 (9%)	>0,999 ³
Cintura hipertrigliceridêmica	6 (3%)	7 (8%)	0,070 ³

¹ Mediana (intervalo interquartil) ou n (%); ² Teste de *Mann-Whitney*; ³ Teste exato de *Fisher*.

D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019.

A classificação do estado nutricional foi feita pelo indicador Índice de Massa Corporal (IMC) para Idade (IMC/I), usando como parâmetro as curvas de crescimento infantil da Organização Mundial da Saúde. A classificação de risco cardiovascular foi feita de acordo com a Relação Cintura-Estatura (RCE), sendo considerado risco presente quando $\geq 0,5$. O fenótipo de cintura hipertrigliceridêmica foi considerado presente na ocorrência simultânea de circunferência da cintura elevada para sexo e idade, e hipertrigliceridemia (5 a 10 anos ≥ 100 mg/dL; 11 a 19 anos ≥ 150 mg/dL).

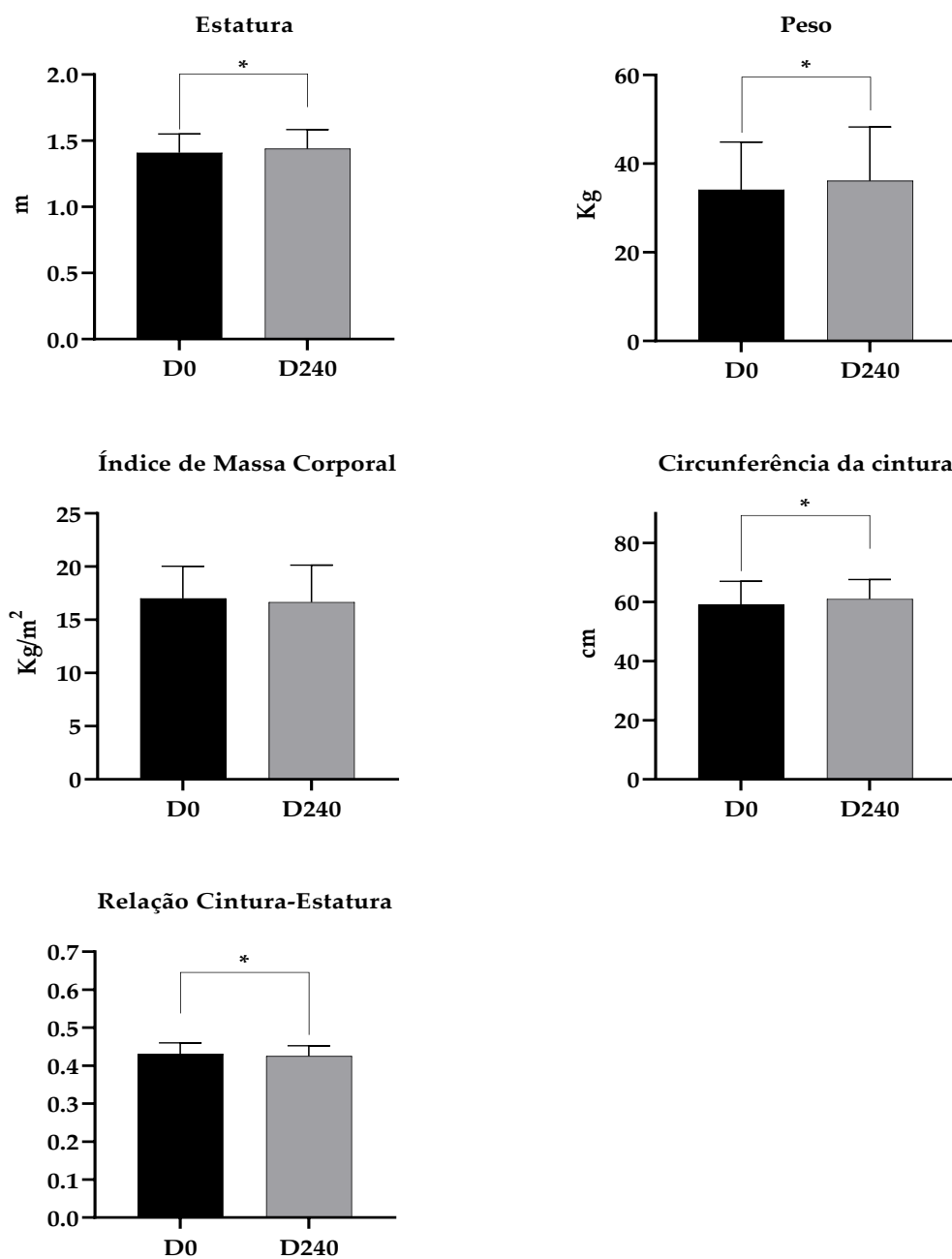


Figura 4 – Análise pareada das características antropométricas de um grupo escolares da rede pública municipal de ensino de quatro municípios do sertão da Bahia, Brasil, antes e após uma intervenção na alimentação escolar no ano letivo de 2019.

Teste estatístico: Teste de *Wilcoxon* pareado. *Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). D0: início do ano letivo de 2019; D240: final do ano letivo de 2019.

A **Tabela 5** descreve a associação entre alguns indicadores laboratoriais e antropométricos, e a exposição às mudanças na alimentação escolar no contexto do PES, comparando os indivíduos expostos aos não expostos. É possível observar que a prevalência de hipercolesterolemia foi seis vezes maior entre os indivíduos não expostos (RP 6,67, IC1,46-30,4, $p = 0,014$). A análise multivariada, controlando para a localização da população (zona rural ou urbana), ratifica esse achado (RP 6,13, IC 1,17-32,1, $p = 0,032$) ou seja, estar exposto ao PES está associado à proteção contra níveis séricos elevados de LDL-colesterol. A concentração fecal de BIF, assim como os demais parâmetros laboratoriais e antropométricos não apresentaram associações positivas ou negativas estatisticamente significantes.

Tabela 5 - Associação entre concentração fecal de Bifidobacterium spp. e características laboratoriais e antropométricas entre os indivíduos expostos ao Programa Escola Sustentável e aqueles não expostos.

Indicadores	Grupo exposto ¹ (n = 124)	Grupo não exposto ¹ (n = 66)	Análise univariada		Análise multivariada	
			OR (95%IC)	p ²	OR (95%IC)	p ²
Bifidobacterium spp.						
Menor concentração	55 (51%)	52 (49%)	1		1	
Maior concentração	18 (56%)	14 (44%)	0,86 (0,46-1,59)	0,631	0,86 (0,45-1,66)	0,654
Hemoglobina baixa						
Ausente	104 (63%)	62 (37%)	1		1	
Presente	2 (67%)	1 (33%)	0,84 (0,78-9,09)	0,887	3,33 (0,33-33,1)	0,304
Hiperglicemia						
Ausente	101 (63%)	59 (37%)	1		1	
Presente	3 (43%)	4 (57%)	2,20 (0,51-9,51)	0,291	2,99 (0,55-16,2)	0,204
LDL-c elevado						
Ausente	103 (65%)	55 (35%)	1		1	
Presente	2 (20%)	8 (80%)	6,67 (1,46-30,4)	0,014	6,13 (1,17-32,1)	0,032
Hipertrigliceridemia						
Ausente	76 (61%)	49 (39%)	1		1	
Presente	29 (67%)	14 (33%)	0,80 (0,46-1,40)	0,444	1,92 (1,10-3,38)	0,023
Deficiência de vit B12						
Ausente	81 (59%)	57 (41%)	1		1	
Presente	8 (57%)	6 (43%)	1,06 (0,39-2,90)	0,910	0,88 (0,30-2,57)	0,810

Excesso de peso						
Ausente	71 (62%)	43 (38%)	1		1	
Presente	34 (61%)	22 (39%)	1,04 (0,67-1,62)	0,843	1,28 (0,81-2,01)	0,294
Baixo peso						
Ausente	100 (63%)	59 (37%)	1		1	
Presente	5 (45%)	6 (55%)	1,94 (0,62-6,10)	0,258	1,34 (0,39-4,57)	0,637
Risco cardiovascular						
Ausente	96 (61%)	61 (39%)	1		1	
Presente	10 (71%)	4 (29%)	0,65 (0,21-1,99)	0,454	1,03 (0,30-3,52)	0,966

¹ n (%); ² Modelo de regressão logística binomial. Análise multivariada para controle da localização da população (zona rural ou urbana).

Valores de p em negrito demonstram significância estatística (< 0,05).

OR: *Odds Ratio*, interpretado como razão de prevalência; IC: intervalo de confiança.

Considerou-se como maior concentração de *Bifidobacterium* spp. valores de mediana de REU (Unidades de Expressão Relativas) superiores ao percentil 75 e como menor concentração valores inferiores ao percentil 75. Para os parâmetros laboratoriais, considerou-se como hiperglicemia: valores de glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL; LDL-colesterol elevado: valores de LDL-colesterol ≥ 130 mg/dL; hipertrigliceridemia: valores de triglicédeos ≥ 100 mg/dL para indivíduos de 5 a 10 anos e ≥ 150 mg/dL para indivíduos de 11 a 19 anos; deficiência de Vitamina B12: valores de vitamina B12 < 200 pg/mL Para os parâmetros antropométricos, foi definido como excesso de peso a junção entre os diagnósticos sobrepeso, obesidade e obesidade grave, e como baixo peso a junção entre os diagnósticos magreza acentuada e magreza, de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC) para Idade (IMC/I) usando como parâmetro as curvas de crescimento infantil da Organização Mundial da Saúde. A classificação de risco cardiovascular foi feita pelo indicador Relação Cintura-Estatura (RCE), sendo considerado risco presente quando $\geq 0,5$.

7 DISCUSSÃO

A realização deste estudo permitiu avaliar a relação entre as concentrações fecais de BIF e parâmetros geográficos, antropométricos, laboratoriais e dietéticos em estudantes de cinco municípios do Sertão da Bahia. Uma amostra de 190 indivíduos foi avaliada em um corte transversal e 124 deles foram avaliados de forma prospectiva em dois momentos, no início (D0) e no final do ano letivo de 2019 (D240), a fim de observar se a exposição a uma intervenção na alimentação escolar foi capaz de influenciar as variáveis de interesse. Os resultados apresentados nos dois primeiros manuscritos se referem à análise da população estudada no corte transversal. Os resultados apresentados nos dois manuscritos seguintes se referem à avaliação da intervenção em si, proposta pelo MPBA, e à avaliação a população exposta a essa intervenção.

A análise quantitativa do consumo alimentar dos indivíduos no D0 revelou alta ingestão de açúcar, sendo esse perfil ainda mais expressivo na população que frequentava escolas da região urbana. Já o consumo de sódio foi mais expressivo na população de escolas rurais. Independentemente da localização da unidade escolar, observou-se alto consumo de gordura saturada em parte dos indivíduos avaliados. Esse perfil de consumo alimentar também foi observado pelo ERICA, em 2016, entre estudantes de escolas públicas e privadas de todo o país (SOUZA et al., 2016).

A avaliação qualitativa do consumo alimentar revelou que quase metade das calorias consumidas vinha de alimentos não processados, no entanto 21% das calorias eram fornecidas por alimentos ultraprocessados, achado ainda mais expressivo na população de escolas urbanas. Um estudo realizado em 2013, com 816 indivíduos em idade pré-escolar, distribuídos em 38 Centros Municipais de Educação Infantil da cidade de Colombo, no Paraná, identificou que os alimentos do ultraprocessados representavam 45,8% do valor calórico total diário consumido (RETONDARIO; DE OLIVEIRA ALVES; FERREIRA, 2022). Andrade e colaboradores, em pesquisa realizada com 50 adolescentes de uma escola privada da cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, identificaram que 84,6% deles destinavam metade dos recursos financeiros de suas compras à aquisição de alimentos ultraprocessados (ANDRADE et al., 2019). Outro estudo, realizado com dados da edição de 2015 da PeNSE, essa de abrangência nacional e que envolve escolas públicas e privadas, revelou que adolescentes de níveis socioeconômicos mais elevados consomem mais alimentos não processados, mas também ultraprocessados, quando comparados àqueles com níveis socioeconômicos mais baixos (DA COSTA et al., 2022). Esses

resultados demonstram que o consumo de alimentos ultraprocessados está presente de forma significativa na alimentação da população brasileira em idade escolar, independentemente de questões sociais, econômicas e geográficas.

Alimentos ultraprocessados são formulações industriais inteiramente ou majoritariamente constituídas de substâncias extraídas de alimentos (óleos, gorduras, açúcar, proteínas), derivadas de constituintes de alimentos (gorduras hidrogenadas, amido modificado), e ou sintetizadas em laboratório a partir de matérias orgânicas (corantes, aromatizantes, edulcorantes, realçadores de sabor). A literatura recente vem evidenciando que esse grupo de alimentos apresenta impacto negativo na qualidade da alimentação da população por diversos fatores, entre eles, por influenciar negativamente a oferta de nutrientes. Alimentos ultraprocessados contribuem para o aumento da densidade energética e dos teores de açúcar e gordura (saturada e *trans*), e para redução do teor de fibras da dieta (SEGURA, 2019). Esse foi o perfil nutricional encontrado na população avaliada no presente estudo, em especial aquela que frequentava escolas da região urbana, que apresentava maior consumo de alimentos ultraprocessados. De acordo com o Guia Alimentar para a População Brasileira, o consumo desses alimentos deve ser evitado, não devendo contribuir para o alcance das necessidades nutricionais diárias (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Um aspecto importante e que precisa ser aqui discutido é que a avaliação do consumo alimentar apresentada neste estudo foi realizada por meio do Recordatório de 24 horas, um método retrospectivo de avaliação quantitativa do consumo alimentar onde o indivíduo relata todos os alimentos consumidos no dia anterior à entrevista. No entanto, independentemente do método de avaliação, retrospectivo ou prospectivo, qualitativo ou quantitativo, o instrumento deve ser aplicado em três momentos diferentes, não consecutivos, que representem dois dias típicos e um dia atípico do consumo alimentar dos indivíduos avaliados. Dessa abordagem em triplicata devem ser extraídas as medidas de tendência central e dispersão, de acordo com a normalidade de distribuição das variáveis (MASCARENHAS et al., 2016). No presente estudo, em função de questões logísticas, não foi possível aplicar o método em triplicata, logo, os dados aqui apresentados representam o consumo alimentar no dia anterior à entrevista, não o padrão de consumo habitual, e as interpretações derivadas desses achados devem levar em consideração essa limitação.

Em relação à avaliação das carências nutricionais no D0, foram observadas diferenças entre a população que frequentava escolas da região rural e urbana. Os níveis séricos de ferritina foram menores nos indivíduos da zona urbana, muito embora isso não tenha representado maior

prevalência de deficiência desse nutriente ou de anemia nessa população. Da mesma forma, os níveis sanguíneos de vitamina D foram menores nos estudantes da zona urbana, provavelmente refletindo o nível de exposição ao sol dessa população, que tende a ser menor quando comparado ao estilo de vida rural, tendo em vista que o status dessa vitamina no organismo tem maior relação com a síntese endógena do que com a ingestão alimentar. De qualquer forma, a prevalência de deficiência de vitamina D não se mostrou relevante na população avaliada por este estudo.

Apesar de alimentos de origem animal serem considerados as melhores fontes de ferro da dieta, pela presença do ferro Heme, de mais fácil absorção, é sabido que alimentos de origem vegetal são igualmente eficazes na manutenção do status de ferro no organismo (AGNOLI et al., 2017). Neste estudo, observou-se relação direta entre o consumo de carnes e vegetais não processados, e os níveis séricos de ferritina, o que não ocorreu com o consumo de carnes processadas e alimentos ultraprocessados em geral. Essa relação inversa entre o consumo carnes processadas também ocorreu com os níveis séricos de vitamina D.

No quesito vitamina B12, embora não tenha sido observada diferença dos níveis séricos entre as populações investigadas, chama atenção o fato de que a prevalência dessa carência nutricional se mostrou consideravelmente maior do que a de ferro. A deficiência de ferro, assim como a anemia ferropriva, ainda é considerada um problema de saúde pública no mundo e na população brasileira. Por essa razão, há mais de duas décadas, o Brasil introduziu políticas públicas de fortificação em massa de ferro, por meio das farinhas de trigo e milho, na intenção de reduzir a prevalência de anemia ferropriva na população (VELLOZO; FISBERG, 2010). No entanto, a deficiência de vitamina B12 também exerce grande impacto no crescimento e desenvolvimento estrutural e cognitivo de crianças e adolescentes e estudos revelam que a prevalência dessa carência nutricional é crescente no mundo, em especial entre as parcelas da população com menor nível socioeconômico, crianças, gestantes e idosos (GREEN et al., 2017). Neste estudo, como esperado, observou-se relação direta entre consumo de carnes não processadas e o status de vitamina B12, porém foi observada relação inversa com consumo de carnes processadas. Ainda assim, a despeito do consumo de carnes, a prevalência da deficiência desse nutriente se mostrou expressiva.

Cabe ainda ressaltar que não existe consenso em relação aos níveis séricos ideais de vitamina B12, o que dificulta a determinação da prevalência da deficiência desse nutriente em nível populacional e a comparação entre os estudos. Nesta pesquisa, foram considerados deficientes os indivíduos com níveis de vitamina B12 abaixo de 200 pg/mL. Se fosse adotado

o ponto de corte acima de 300 pg/mL ou 500 pg/mL como suficiência, sugeridos por outros autores, a prevalência da carência nutricional teria sido ainda mais expressiva (DANG et al., 2014; ROSENTHAL et al., 2017). Esse achado revela a necessidade de políticas de enfrentamento à deficiência de vitamina B12 para além da recomendação da ingestão de alimentos de origem animal, uma vez que o consumo de carne processada se mostrou ineficaz para esse objetivo, além de ser um fator de risco para o desenvolvimento de câncer em humanos, tendo sido classificado como grupo 1, ao lado do cigarro, da radiação solar e da ingestão de álcool. O consumo de carnes não processadas foi classificado como provável carcinogênico em humanos, fazendo parte do grupo 2A, assim como a acrilamida e o agrotóxico diclorodifeniltricloroetano (BOUVARD et al., 2015).

Quanto ao perfil lipídico, também houve diferença estatisticamente significativa entre os indivíduos estudados, sendo a hipertrigliceridemia mais prevalente entre os estudantes de escolas urbanas, onde também foi encontrado maior consumo de alimentos ultraprocessados e açúcar, e menor ingestão de fibras. Independentemente dessa diferença, a prevalência de hipertrigliceridemia e de LDL-colesterol elevado foi maior que padrão nacional observado pelo ERICA, em 2016, que, desde então, já evidenciava maior prevalência de hipertrigliceridemia na população nordeste, quando comparada ao restante do país (FARIA-NETO et al., 2016). Ainda, o ERICA demonstrou que a prevalência nacional de síndrome metabólica (2,6%) se mostrou maior entre estudantes de escolas públicas (2,8%) (KUSCHNIR et al., 2016). Esses dados sugerem uma evolução negativa do perfil lipídico e metabólico da população brasileira em idade escolar nos últimos anos e aponta a necessidade de implementação de políticas públicas de enfrentamento a esse cenário.

Cabe salientar que o parâmetro de abrangência nacional para avaliação de carências nutricionais na população infantil brasileira é o ENANI (“ENANI - ESTUDO NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO INFANTIL”, [s.d.]), que abrange todas as regiões, estados e capitais do país, no entanto, é limitado a crianças de até 5 anos. Da mesma forma, a referência de nível nacional para avaliação de perfil lipídico e metabólico na população infantil é o ERICA (“ERICA – Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes”, [s.d.]), também de característica multicêntrica, abrangendo estudantes de escolas públicas e privadas, porém, como o nome sugere, inclui apenas indivíduos entre 12 e 17 anos. Existe, portanto, uma lacuna na literatura científica quanto à prevalência de carências nutricionais entre a população em idade escolar maior de 5 anos, assim como de dislipidemia e distúrbios metabólicos entre aqueles

menores de 12 anos, o que dificulta a comparação dos resultados encontrados no presente estudo.

A POF, considerando dados de 1974 a 2018, confirma na população brasileira a tendência mundial de aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade, inclusive entre indivíduos em idade escolar (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA., 2020). Essa realidade também foi evidenciada pela PeNSE (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2016) e pelo VIGITEL (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018), que demonstrou que 15% dos brasileiros entre 6 e 18 anos foram diagnosticados com sobrepeso e 5% com obesidade.

Neste estudo, como já era esperado, o consumo de calorias totais apresentou relação positiva com o IMC. No entanto, entre os grupos alimentares analisados o dos não processados foi o que apresentou relação positiva com o IMC. Isso talvez possa ser explicado pela maior participação calórica de cereais e carnes nesse grupo. A prevalência de sobrepeso foi de 17%, assim como a de obesidade (somados obesidade e obesidade grave), demonstrando que 34% dos indivíduos avaliados apresentaram algum grau de excesso de peso, sendo esse cenário ainda mais expressivo entre estudantes da região urbana.

O consumo de sódio, de alimentos não processados e de ingredientes culinários apresentou relação positiva com a CC, provavelmente porque os alimentos mais consumidos nesses grupos, em termos de participação calórica, foram cereais, carnes, óleo e açúcar. Já a RCE apresentou relação positiva com o consumo de frutas e sucos, provavelmente devido à presença de açúcar de adição, uma vez que esses alimentos representaram 18% das calorias consumidas no grupo de alimentos não processados e frutas *in natura* geralmente têm baixa densidade energética. A população urbana também apresentou valores de CC e de RCE mais elevados, quando comparados aos estudantes da região rural, o que sugere maior prevalência de risco cardiovascular nesses indivíduos.

Neste estudo, a maior parte dos indivíduos avaliados nasceu via parto vaginal, em especial na zona rural, cenário comum entre populações assistidas, em sua maioria, pelo SUS. A maioria foi exposta ao aleitamento materno, porém pouco mais da metade o recebeu de forma exclusiva nos primeiros seis meses de vida, contrariando o que recomenda o Ministério da Saúde, no Guia Alimentar para Crianças Brasileiras Menores de 2 Anos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Ainda, a maior parte foi exposta à antibioticoterapia antes dos primeiros 5 anos de vida. Apesar de a literatura científica descrever que a microbiota intestinal, em especial o gênero BIF, sofre influência do tipo de parto e presença e duração do

aleitamento materno, assim como da exposição precoce a medicamentos como antibióticos (RONAN; YEASIN; CLAUD, 2021), na população investigada pelo presente estudo no D0 não houve diferença na concentração fecal dessa bactéria em função dessas variáveis. Cabe aqui ressaltar que essas informações não foram registradas em documentos, mas relatadas pelos responsáveis legais pelos indivíduos que compuseram a amostra, o que implicava em compreensão dos questionamentos feitos pela equipe de coleta no momento da entrevista, além de depender da memória.

Estudos prévios sugerem que indivíduos que têm mais contato com o estilo de vida do campo tendem a ter microbiota intestinal mais saudável, com predominância de bactérias probióticas, entre elas o gênero BIF (ZHUANG et al., 2019). Nesta pesquisa, não houve diferença na concentração fecal desse gênero bacteriano em função da localização geográfica da população. Vale salientar que, no presente estudo, a população foi dividida entre rural e urbana levando em consideração a localização da unidade escolar na qual o estudante estava matriculado, não ao local de residência. A maior parte dos indivíduos que estudavam em escolas na zona rural morava também nessa região, o mesmo acontecia com aqueles que estudavam na zona urbana. No entanto, essa pode representar uma limitação para interpretação desse resultado, uma vez que uma parte dos indivíduos avaliados estudava em unidades escolares localizadas fora de sua região residencial.

A literatura científica demonstra que o consumo de alimentos de origem vegetal, pelo maior teor de fibras, parece ser mais favorável à microbiota intestinal saudável, enquanto o consumo de alimentos de origem animal, em especial pelo teor de gordura saturada, estaria relacionado a um desfecho desfavorável (IDDRISU et al., 2021). No entanto, são escassos os estudos que buscam avaliar o comportamento da microbiota intestinal de acordo com o consumo alimentar sob o prisma do seu nível de processamento. Miclotte e Van de Wiele demonstraram que o consumo de alimentos ultraprocessados pode alterar negativamente, de forma direta e indireta, a composição da microbiota intestinal, devido a alterações na densidade de micronutrientes e energia, e à presença de aditivos alimentares e de produtos finais de glicação avançada oriundos do tratamento térmico durante o processamento desses alimentos (MICLOTTE; VAN DE WIELE, 2019). Neste estudo, os indivíduos que consumiam mais carnes, em comparação aos que consumiam menos, tinham menor abundância de BIF nas fezes.

A literatura também demonstra que um perfil de microbiota intestinal desfavorável está associado ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como resistência à insulina, dislipidemia, obesidade e doenças cardiovasculares (ZHANG et al., 2015). Neste

estudo, não houve diferença estatisticamente significativa da concentração fecal de BIF entre os indivíduos que apresentavam hiperglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e excesso de peso, e aqueles que não apresentavam. No entanto, a baixa concentração fecal de BIF foi associada à maior prevalência de hiperglicemia, assim como a maior concentração desse gênero bacteriano na microbiota intestinal foi associada à proteção cardiovascular.

As condições de saúde de crianças em idade escolar podem ser significativamente influenciadas pela escola. A escola é considerada um ambiente potencial para a promoção da saúde, bem como para a educação nutricional, ambiental e humanitária. Estudos realizados na Europa demonstram que intervenções no âmbito escolar tendem a influenciar positivamente o comportamento alimentar dos estudantes, principalmente àquelas relacionadas à alimentação, com maior oferta de frutas, verduras e legumes (VAN CAUWENBERGHE et al., 2010). A alimentação escolar, especialmente no Brasil, onde é apoiada pela maior e mais antiga política pública de segurança alimentar e nutricional do país, é, portanto, uma ferramenta estratégica para a promoção da saúde, além de sustentabilidade ambiental, econômica e social.

A avaliação da intervenção na alimentação escolar proposta pelo MPBA, no contexto do PES, demonstrou que, apesar do esforço em promover a aceitabilidade por parte dos estudantes e garantir a viabilidade nutricional dos cardápios, aquele intitulado “sustentável”, praticado duas vezes por semana ao longo dos 200 dias letivos de 2019, apresentou menor frequência de frutas e hortaliças *in natura*, bem como menor diversidade de alimentos e preparações. Além disso, um aspecto relevante que dificultou a comparação entre os cardápios em termos de variedade foi a diferença no formato das refeições, que não seguia um padrão (entrada, prato principal e sobremesa) e por vezes se apresentava como refeição completa, mas em outras como um lanche, variando entre um e três itens.

Quanto à composição nutricional, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa no teor de nutrientes dos cardápios, exceto para o conteúdo de cálcio, maior no “convencional”, e de magnésio e ferro, maior no “sustentável”, além do teor de colesterol, ausente no “sustentável” por essa ser uma gordura de origem animal. Outro aspecto importante observado foi relacionado à avaliação qualitativa dos cardápios, considerando a classificação NOVA. A substituição do grupo das carnes, sejam elas minimamente processadas, processadas ou ultraprocessadas, por alimentos minimamente processados do grupo das leguminosas, como soja e amendoim, reduziu automaticamente a contribuição calórica advinda de alimentos processados e ultraprocessados, e aumentou a participação calórica dos alimentos não

processados, uma vez que o grupo das carnes apresenta maior densidade calórica que o grupo das leguminosas.

Considerando que um dos objetivos do PES é a prevenção de DCNT na população escolar, foi possível observar que o cardápio “sustentável” apresentou perfil nutricional mais promissor, uma vez que se mostrou mais adequado no atendimento das necessidades de fibras e no respeito aos limites máximos de ingestão de colesterol e sódio, quando comparado ao cardápio “convencional”.

A análise comparativa dos indivíduos antes após a intervenção na alimentação escolar revelou achados significativos. Sobre o aspecto nutricional, foi observado maior consumo de energia total, gordura saturada e colesterol, a despeito da menor presença desse último nutriente no cardápio escolar ao longo do ano letivo. De acordo com a avaliação qualitativa do consumo alimentar, houve aumento da participação calórica dos alimentos não processados no aporte energético diário, sendo os cereais e as leguminosas os itens que mais contribuíram para isso. Esse achado era esperado, uma vez que a intervenção na alimentação escolar proposta incluiu o aumento da oferta desses alimentos.

A avaliação longitudinal dos indicadores laboratoriais demonstrou aumento dos níveis séricos de hemoglobina. Parte dos cardápios isentos de alimentos de origem animal continham mais ferro, quando comparados aos “convencionais”, porém, não foi observado incremento significativo do status de ferritina nessa população, o que sugere que o aumento dos níveis de hemoglobina pode ser justificado por outros fatores além dos dietéticos.

Outro achado relevante foi a redução dos níveis séricos de vitamina D, embora não suficiente para representar aumento da prevalência de deficiência desse nutriente, que se mostrou baixa nessa população. Apesar de não terem sido avaliados aspectos relacionados à atividade física neste estudo, é possível supor que no D0, início do ano letivo de 2019, os níveis séricos de vitamina D tenham se mostrado superiores devido ao aumento da exposição ao sol decorrente de atividades ao ar livre, mais frequentes no período das férias de verão. Ao contrário, ao final de 200 dias de período letivo, com conseqüente redução da frequência dessas atividades e da exposição solar, é esperado que haja redução dos níveis séricos dessa vitamina, diretamente dependente da síntese endógena decorrente da exposição aos raios ultravioletas.

Apesar da exclusão de alimentos de origem animal da alimentação escolar duas vezes por semana ao longo do período letivo de 2019 não houve alteração estatisticamente significativa dos níveis séricos de vitamina B12 nos indivíduos expostos à intervenção, provavelmente devido à presença dessa vitamina em alimentos de origem vegetal fortificados.

Cabe também ressaltar a participação dos alimentos de origem animal nas refeições que os indivíduos faziam fora da escola, que pode ter contribuído para a manutenção dos níveis séricos de vitamina B12.

Foi observada também na população exposta à intervenção uma redução significativa dos níveis séricos de LDL-colesterol, assim como maior prevalência de LDL-colesterol elevado entre os indivíduos não expostos. Uma vez que a intervenção proposta pelo PES incluiu a redução da oferta de alimentos fontes de colesterol na alimentação escolar, mas a avaliação do consumo alimentar ao final do ano letivo revelou aumento da ingestão desse nutriente nos indivíduos expostos à intervenção, é possível supor que esse aumento se deva à alimentação que os indivíduos faziam fora da escola. Cabe lembrar que a intervenção investigada neste estudo se limitou a oferta de uma a duas refeições por dia, ao longo de 200 dias, sem interferência nos demais alimentos consumidos dentro e fora do ambiente escolar. Da mesma forma, é preciso ressaltar as limitações relacionadas à forma de avaliação do consumo alimentar realizada neste estudo, descritas anteriormente. Outro aspecto que precisa ser salientado é que a coleta de dados do grupo exposto se deu no final do ano letivo de 2019 e a do não exposto no início do ano letivo de 2020, esse também pode ser um fator limitante para essa interpretação.

Desfecho igualmente significativo se refere ao aumento dos níveis séricos de triglicerídeos, cenário já preocupante na avaliação no D0. Esse incremento não pôde ser justificado pelo consumo alimentar, uma vez que a análise pareada revelou redução da ingestão de carboidratos, perfil nutricional favorável à redução dos níveis séricos de triglicerídeos e não ao aumento. Considerando-se as limitações apresentadas em relação à avaliação do consumo alimentar realizada neste estudo, uma outra justificativa para esse achado poderia ser a maior oferta de carboidratos e açúcar na alimentação escolar. Porém, a avaliação dos cardápios escolares demonstrou não haver aumento estatisticamente significativo da oferta de carboidratos e açúcar nos cardápios isentos de alimentos de origem animal, aplicados duas vezes por semana, quando comparados aos executados nos demais dias. Um aspecto relevante não avaliado pelo presente estudo foi a prática de atividade física. O sedentarismo, assim como os hábitos alimentares, está relacionado com desfechos como dislipidemia, excesso de peso e doenças cardiovasculares também na população em idade escolar (CAMARGO et al., 2021). A investigação da prática de exercícios físicos nessa população poderia auxiliar na compreensão do desfecho relacionado à hipertrigliceridemia.

No âmbito da avaliação da microbiota intestinal, não houve diferença da abundância fecal de BIF antes e após a intervenção na alimentação escolar. Cabe aqui ressaltar que a

intervenção inicialmente planejada para ser executada em um período de dois anos, quando a frequência da exposição aos cardápios modificados seria de quatro vezes por semana, teve seu curso interrompido pela pandemia de COVID-19 no início do ano letivo de 2020. Sendo assim, a suspensão das aulas presenciais em função da necessidade de distanciamento social reduziu o tempo e a frequência de exposição dos indivíduos à intervenção proposta, o que sugere que a interpretação dos desfechos observados leve em consideração essa limitação.

A avaliação longitudinal dos indicadores antropométricos apontou incremento de estatura, peso e circunferência da cintura entre os indivíduos expostos à intervenção, achados esperados numa população em período de crescimento e desenvolvimento estrutural. Entretanto, foi observada redução da RCE, o que significa progressão do crescimento estrutural com redução do risco cardiovascular para essa população. Associada à redução dos níveis séricos de LDL-colesterol, pode-se inferir que a exposição ao PES tenha propiciado desfechos favoráveis do ponto de vista metabólico à população. No entanto, outros estudos devem ser propostos no intuito de investigar a influência da atividade física, além das dietéticas, nos achados laboratoriais e antropométricos de populações expostas a intervenções dessa natureza.

8 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem confirmar a hipótese de que a concentração fecal de BIF tem relação com parâmetros laboratoriais em indivíduos em idade escolar, estando o seu aumento associado com alterações metabólicas positivas, e que isso pode ter sido resultante de mudanças no padrão alimentar. Da mesma forma, é possível concluir que a exposição ao PES resultou em melhora de parâmetros laboratoriais e antropométricos da população alcançada, com redução dos níveis séricos de LDL-colesterol e do risco cardiovascular, porém com piora da hipertrigliceridemia.

Esses dados sugerem que políticas públicas locais que visem a promoção de sustentabilidade social, econômica e ambiental, por meio do estímulo ao consumo de vegetais e redução da oferta de alimentos de origem animal e ultraprocessados na alimentação escolar, podem contribuir também para o enfrentamento às DCNT entre crianças e adolescentes da rede pública municipal de ensino. No entanto, sugere-se que estudos posteriores investiguem a influência da prática de atividade física nos desfechos de saúde dessa população.

REFERÊNCIAS

- AGNOLI, C. et al. Position paper on vegetarian diets from the working group of the Italian Society of Human Nutrition. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 27, n. 12, p. 1037–1052, 1 dez. 2017.
- ALBESIANO, E. et al. Activation-induced cytidine deaminase in chronic lymphocytic leukemia B cells: expression as multiple forms in a dynamic, variably sized fraction of the clone. **Blood**, v. 102, n. 9, p. 3333–3339, 1 nov. 2003.
- ANDRADE, L. M. M. et al. Estado nutricional, consumo de alimentos ultraprocessados e imagem corporal de adolescentes de uma escola privada do município de Juiz de Fora – MG. **HU Revista**, v. 45, n. 1, p. 40–46, 1 ago. 2019.
- ANDRETTA, V. et al. Consumo de alimentos ultraprocessados e fatores associados em uma amostra de base escolar pública no Sul do Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 26, n. 4, p. 1477–1488, 19 abr. 2021.
- BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. suppl 1, p. S181–S191, 2003.
- BATLLE-BAYER, L. et al. An explorative assessment of environmental and nutritional benefits of introducing low-carbon meals to Barcelona schools. **Science of The Total Environment**, v. 756, p. 143879, 20 fev. 2021.
- BENTHAM, J. et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. **The Lancet**, v. 390, n. 10113, p. 2627–2642, 16 dez. 2017.
- BESERRA, B. T. S. **Avaliação da microbiota intestinal e sua relação com parâmetros metabólicos em mulheres com obesidade mórbida**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/129567/329288.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. acesso em: 16 dez. 2017.
- BOUTER, K. E. et al. Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction. **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1671–1678, 1 maio 2017.
- BOUVARD, V. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. **The Lancet Oncology**, v. 2045, n. 15, p. 1599–1600, 2015.
- BRASIL. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 13 jun. 2013. . 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. **PNAE - Programa Nacional de Alimentação Escolar**. Disponível em: <<https://www.fnde.gov.br/index.php/legislacoes/institucional-leis/item/3345-lei-n-11947-de-16-de-junho-de-2009>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. **PNAE - Programa Nacional de Alimentação Escolar**. Brasília: FNDE, (c2017). Disponível em: <<https://www.fnde.gov.br/index.php/aceso-a-informacao/institucional/legislacao/item/13511-resolu%C3%A7%C3%A3o-n%C2%BA-6,-de-08-de-maio-de-2020>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014 Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **VIGITEL Brasil 2017**: sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2017_vigilancia_fatores_riscos.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/guia_da_crianca_2019.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2022.

CAMARGO, J. D. S. A. A. et al. Prevalence of obesity, high blood pressure, dyslipidemia and their associated factors in children and adolescents in a municipality in the Brazilian Amazon region. **Journal of Human Growth and Development**, v. 31, n. 1, p. 37–46, 28 abr. 2021.

COSTA LEITE, J. et al. Healthy low nitrogen footprint diets. **Global Food Security**, v. 24, p. 100342, 1 mar. 2020.

CRISPIM, S. P. **Manual fotográfico de quantificação alimentar**. 1. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2017.

DA COSTA, B. G. G. et al. Socioeconomic inequalities in the consumption of minimally processed and ultra-processed foods in Brazilian adolescents. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 1469–1476, 22 abr. 2022.

DANG, S. et al. The Status of Vitamin B12 and Folate among Chinese Women: A Population-Based Cross-Sectional Study in Northwest China. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112586, 12 nov. 2014.

DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559–563, 11 dez. 2013.

DE SOUZA, M. E.; PEREIRA, P. C. M. Microbiota intestinal de indivíduos que sofreram acidente ocupacional com materiais biológicos e que realizaram profilaxia anti-retroviral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, p. 653–656, 2007.

DOS SANTOS, F. B. et al. Fatores de risco comportamentais para doenças cardiovasculares entre adolescentes da zona rural de um município do Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 2, p. e00241119, 12 mar. 2021.

DOS SANTOS FARIAS, E. et al. Overweight and obesity: prevalence in children and adolescents in Northern Brazil. **Journal of Human Growth and Development**, v. 30, n. 2, p. 266–273, 2020.

ENANI - ESTUDO NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO INFANTIL. Disponível em: <<https://enani.nutricao.ufrj.br/>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

PROJETO ERICA. **ERICA**: estudo de riscos cardiovasculares em adolescentes. [Rio de Janeiro], [c], 2011. Disponível em: <<http://www.ERICA.ufrj.br/>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

ESHEL, G.; MARTIN, P. A. Diet, Energy, and Global Warming. **Earth Interactions**, v. 10, n. 9, p. 1–17, 1 abr. 2006.

FAO.FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Sustainable diets and biodiversity: directions and solutions for policy, research and action**. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/i3004e/i3004e.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

FAO.FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water for Sustainable Food and Agriculture: A report produced for the G20 Presidency of Germany**. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/i7959e/i7959e.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

FARIA-NETO, J. R. et al. ERICA: prevalence of dyslipidemia in Brazilian adolescents. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p. 1s–10s, 23 fev. 2016.

FAVA, F. et al. Impact of wheat aleurone on biomarkers of cardiovascular disease, gut microbiota and metabolites in adults with high body mass index: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. **European Journal of Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 2651–2671, 1 ago. 2022.

FERNÁNDEZ, J. R. et al. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. **The Journal of Pediatrics**, v. 145, n. 4, p. 439–444, 1 out. 2004.

FERREIRA, H. D. S. et al. Stunting and overweight among children in Northeast Brazil: Prevalence, trends (1992-2005-2015) and associated risk factors from repeated cross-sectional surveys. **BMC Public Health**, v. 20, n. 1, p. 1–15, 20 maio 2020.

GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek** 2020 **113:12**, v. 113, n. 12, p. 2019–2040, 2 nov. 2020a.

GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek** 2020 **113:12**, v. 113, n. 12, p. 2019–2040, 2 nov. 2020b.

GONG, C. et al. Effects of Antibiotic Treatment and Probiotics on the Gut Microbiome of 40 Infants Delivered Before Term by Cesarean Section Analysed by Using 16S rRNA Quantitative Polymerase Chain Reaction Sequencing. **Medical Science Monitor**, v. 27, 5 fev. 2021.

GREEN, R. et al. Vitamin B12 deficiency. **Nature Reviews Disease Primers** 2017 **3:1**, v. 3, n. 1, p. 1–20, 29 jun. 2017.

HEINRICH BÖLL FOUNDATION et al. **MEAT ATLAS Facts and figures about the animals we eat**. Disponível em: <www.boell.de/fleischatlas>. Acesso em: 15 ago. 2022.

HIDALGO-CANTABRANA, C. et al. Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 3, 19 maio 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 - Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 - Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50002.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa nacional de saúde do escolar: 2015**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv97870.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018 - Análise do Consumo Alimentar no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018 - Análise do Consumo Alimentar no Brasil**. Brasília, 2020. Acesso em: 15 ago. 2022

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Conheça as cidades e estados do Brasil**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/valente/panorama>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

IDDRISU, I. et al. Malnutrition and gut microbiota in children. **Nutrients** 2021, **Vol. 13, Page 2727**, v. 13, n. 8, p. 2727, 8 ago. 2021.

IGLESIAS-VÁZQUEZ, L. et al. composition of gut microbiota in children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. **Nutrients** 2020, **Vol. 12, Page 792**, v. 12, n. 3, p. 792, 17 mar. 2020.

IHEKWEAZU, F. D.; VERSALOVIC, J. Development of the pediatric gut microbiome: impact on health and disease. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 356, n. 5, p. 413–423, 1 nov. 2018.

INDIANI, C. M. D. S. P. et al. Childhood Obesity and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Gut Microbiota: A Systematic Review. **Childhood Obesity**, v. 14, n. 8, p. 501–509, 1 nov. 2018.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline**. Washington, DC: National Academies Press, 1998. . Acesso em: 15 ago. 2022.

KOETH, R. A. et al. Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. **Nature Medicine** 2013 19:5, v. 19, n. 5, p. 576–585, 7 abr. 2013.

KUSCHNIR, M. C. C. et al. ERICA: prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adolescents. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 1, p. 1s–13s, 7 jun. 2016.

LANE, M. et al. The effect of ultra-processed very low-energy diets on gut microbiota and metabolic outcomes in individuals with obesity: a systematic literature review. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 14, n. 3, p. 197–204, 1 maio 2020.

MARINO, M. et al. A Systematic review of worldwide consumption of ultra-processed foods: findings and criticisms. **Nutrients** 2021, Vol. 13, Page 2778, v. 13, n. 8, p. 2778, 13 ago. 2021.

MASCARENHAS, J. M. O. et al. Validation of a food frequency questionnaire designed for adolescents in Salvador, Bahia, Brazil. **Revista de Nutrição**, v. 29, n. 2, p. 163–171, 1 jan. 2016.

MASSON-DELMOTTE, V. et al. **IPCC, 2021: Climate Change 2021: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK, New York, USA: [s.n.]. Disponível em: <www.ipcc.ch>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MCCARTHY, H. D.; ASHWELL, M. A study of central fatness using waist-to-height ratios in UK children and adolescents over two decades supports the simple message – ‘keep your waist circumference to less than half your height’. **International Journal of Obesity** 2006 30:6, v. 30, n. 6, p. 988–992, 24 jan. 2006.

MICLOTTE, L.; VAN DE WIELE, T. Food processing, gut microbiota and the globesity problem. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1596878>, v. 60, n. 11, p. 1769–1782, 16 jun. 2019.

MONTEIRO, C. A.; CANNON, G.; LEVY, R. B. A estrela brilha. **World Nutrition Janeiro-Março**, v. 7, n. 3, p. 28–40, 2016.

MPBA. MINISTÉRIO PÚBLICO DA BAHIA. **Programa Escola Sustentável**. Disponível em: <<https://www.mpba.mp.br/projeto/escola-sustentavel>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MYERS, S. S. et al. Effect of increased concentrations of atmospheric carbon dioxide on the global threat of zinc deficiency: A modelling study. **The Lancet Global Health**, v. 3, n. 10, p. e639–e645, 1 out. 2015.

NAMBIAR, S. et al. Validating the waist-height ratio and developing centiles for use amongst children and adolescents. **Acta Pædiatrica**, v. 98, n. 1, p. 148–152, 1 jan. 2009.

PAGLIAI, G. et al. Consumption of ultra-processed foods and health status: a systematic review and meta-analysis. **The British journal of nutrition**, v. 125, n. 3, p. 308–318, 14 fev. 2021.

PASSOS, C. M. DOS et al. Association between the price of ultra-processed foods and obesity in Brazil. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 30, n. 4, p. 589–598, 12 abr. 2020.

peixinho, a. m. l. a trajetória do programa nacional de alimentação escolar no período de 2003-2010: relato do gestor nacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 4, p. 909–916, 2013.

PELLIZONI, F. P. et al. Detection of dysbiosis and increased intestinal permeability in brazilian patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 9, 1 maio 2021.

REDE BRASILEIRA DE PESQUISA EM; SOBERANIA E SEGURANÇA ALIMENTAR. **II VIGISAN**: inquérito nacional sobre insegurança alimentar no contexto da pandemia da COVID-19 no Brasil. São Paulo: PENSSAN, 2022. Disponível em: <<https://olheparaafome.com.br/wp-content/uploads/2022/06/Relatorio-II-VIGISAN-2022.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

POORE, J.; NEMECEK, T. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. **Science**, v. 360, n. 6392, p. 987–992, 1 jun. 2018.

RETONDARIO, A.; DE OLIVEIRA ALVES, M. A.; FERREIRA, S. M. R. Contribution of ultra-processed food to the nutritional dietary profile of young children school feeding. **Revista de Nutrição**, v. 35, 3 jun. 2022.

RIVA, A. et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 95–105, 1 jan. 2017.

RONAN, V.; YEASIN, R.; CLAUD, E. C. Childhood development and the microbiome—the intestinal microbiota in maintenance of health and development of disease during childhood development. **Gastroenterology**, v. 160, n. 2, p. 495–506, 1 jan. 2021.

ROSENTHAL, J. et al. Folate deficiency is prevalent in women of childbearing age in belize and is negatively affected by coexisting vitamin b-12 deficiency: belize national micronutrient survey 2011. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 6, p. 1183–1193, 1 jun. 2017.

SEGURA, I. E. Avaliação do estado nutricional e consumo alimentar de escolares da rede municipal de educação de São Paulo. 28 ago. 2019.

SILVA, L. C. DE S. E et al. Hypertriglyceridemic waist and associated factors in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 38, 16 mar. 2020.

SMITH, M. R. et al. Effects of decreases of animal pollinators on human nutrition and global health: A modelling analysis. **The Lancet**, v. 386, n. 10007, p. 1964–1972, 14 nov. 2015.

SOUZA, A. DE M. et al. ERICA: intake of macro and micronutrients of Brazilian adolescents. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 1, p. 1s–15s, 23 fev. 2016.

STEFFEN, W. et al. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. **Science**, v. 347, n. 6223, 13 fev. 2015.

SWINBURN, B. A. et al. The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report. **The Lancet**, v. 393, n. 10173, p. 791–846, 23 fev. 2019.

TAYLOR, R. W. et al. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3–19 y. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 490–495, 1 ago. 2000.

TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621–1630, 1 nov. 2002.

UNICAMP. **TBCA - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Disponível em: <http://www.tbca.net.br/base-dados/composicao_alimentos.php>. Acesso em: 15 ago. 2022.

UNICEF. UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND. **For Every Child, Reimagine. UNICEF Annual Report 2019**. Disponível em: <<https://www.unicef.org/media/74016/file/UNICEF-annual-report-2019.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

VAN CAUWENBERGHE, E. et al. Effectiveness of school-based interventions in Europe to promote healthy nutrition in children and adolescents: systematic review of published and 'grey' literature. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 6, p. 781–797, mar. 2010.

VELLOZO, E. P.; FISBERG, M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. SUPPL. 2, p. 134–139, 2010.

VERGETTI BLOCH, K. et al. **ERICA**: prevalências de hipertensão arterial e obesidade em adolescentes brasileiros. 2016.

WATTS, N. et al. The 2019 report of The Lancet Countdown on health and climate change: ensuring that the health of a child born today is not defined by a changing climate. **The Lancet**, v. 394, n. 10211, p. 1836–1878, 16 nov. 2019.

WHITMEE, S. et al. Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: Report of the Rockefeller Foundation-Lancet Commission on planetary health. **The Lancet**, v. 386, n. 10007, p. 1973–2028, 14 nov. 2015.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Curva de crescimento infantil - IMC/I (5-19 anos)**. Disponível em: <<https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years/indicators/bmi-for-age>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the commission on ending childhood obesity**. Geneve: [s.n.]. Acesso em: 15 ago. 2022.

WILLETT, W. et al. Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. **The Lancet**, v. 393, n. 10170, p. 447–492, 2 fev. 2019.

ZHANG, C. et al. Dietary Modulation of Gut Microbiota Contributes to Alleviation of Both Genetic and Simple Obesity in Children. **EBioMedicine**, v. 2, n. 8, p. 968–984, 1 ago. 2015.

ZHUANG, L. et al. Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 17, n. 1, p. 13–25, 1 fev. 2019.

Apêndice A: Avaliação de um projeto de intervenção na alimentação escolar sobre a saúde de crianças e adolescentes no sertão da Bahia.

AVALIAÇÃO DE UM PROJETO DE INTERVENÇÃO NA ALIMENTAÇÃO ESCOLAR SOBRE A SAÚDE DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO SERTÃO DA BAHIA.

Page 1

Dados clínicos e familiares

Record ID	_____
	(CREIII)
Tipo de parto	<input type="radio"/> Normal <input type="radio"/> Cesariana
Aleitamento materno	<input type="radio"/> Presente <input type="radio"/> Ausente
Tempo de aleitamento materno exclusivo	<input type="radio"/> < 6 meses <input type="radio"/> > 6 meses
Introdução do leite de vaca na alimentação complementar	<input type="radio"/> < 6 meses <input type="radio"/> > 6 meses
Uso de antibióticos nos primeiros 5 anos de vida	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
História familiar de obesidade	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Familiar com obesidade	_____
História familiar de HAS	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Familiar com hipertensão	_____
Uso de medicamentos	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Tempo de uso do medicamento	_____
Apresentação de sintomas clínicos	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Quais sintomas	_____

Avaliação do consumo alimentar (R24h)

Record ID

(CREIII)

Data da coleta

1a REFEIÇÃO

Horário da refeição

Alimentos e quantidades da refeição
(Inserir os dados com o máximo de detalhes possível)

2a REFEIÇÃO

Horário da refeição

Alimentos e quantidades da refeição
(Inserir os dados com o máximo de detalhes possível)

3a REFEIÇÃO

Horário da refeição

Alimentos e quantidades da refeição
(Inserir os dados com o máximo de detalhes possível)

4a REFEIÇÃO

Horário da refeição

Alimentos e quantidades da refeição
(Inserir os dados com o máximo de detalhes possível)

Apêndice B: Termo de consentimento livre e esclarecido (grupo exposto)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO EXPOSTO)**

Seu (sua) filho(a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **AVALIAÇÃO DE UM PROJETO DE INTERVENÇÃO NA MERENDA ESCOLAR SOBRE A SAÚDE DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO SERTÃO DA BAHIA.**

Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso tenha alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los. A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para seu(sua) filho(a) participar do mesmo.

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da redução de consumo de derivados animais (carnes, peixes, leite, manteiga, queijos, ovos) e o aumento de frutas (laranja, abacaxi, manga), verduras (couve, repolho), leguminosas (feijões, amendoim) e cereais integrais (milho, aveia) na Merenda Escolar de quatro municípios do Sertão da Bahia sobre a saúde dos estudantes, através de medidas de peso, altura, dobras da pele e exames de laboratório (sangue e fezes).

As escolas municipais de Serrinha, Biritinga, Barrocas e Teofilândia fazem parte de um programa que propõe melhorias para o meio ambiente. Vários estudos afirmam que uma alimentação rica em alimentos de origem vegetal e pobre em alimentos de origem animal pode prevenir doenças como aumento excessivo de peso (ficar gordo), açúcar no sangue, pressão alta, alguns tipos de câncer, etc. A Organização das Nações Unidas afirma que consumir menos alimentos de origem animal faz bem para o meio ambiente. As refeições a serem servidas na merenda escolar aos alunos foram reavaliadas por nutricionistas e médicos a fim de garantir que forneçam os nutrientes (substâncias boas para o corpo) que são necessários para o crescimento e desenvolvimento das crianças e adolescentes. As merendeiras fizeram cursos a fim de prepararem uma merenda mais saborosa. Além disso, a agricultura familiar na região será fortalecida e dela deverão ser adquiridos os alimentos a serem servidos nas escolas.

Todas essas ações vão mudar as refeições servidas na sua Escola. Por isso, convidamos seu(sua) filho(a) para participar deste estudo visando a avaliar o efeito desta nova merenda nas condições de saúde de sua criança ou adolescente.

Se você concordar, responderá a um questionário sobre os alimentos que seu(sua) filho(a) come no dia a dia, atividades físicas que fazem parte da rotina e alguns dados importantes sobre nascimento, amamentação e dados familiares. Seu(sua) filho(a) será pesado(a), medido(a), e serão avaliadas as dobras da pele e a pressão arterial. Depois, ele(a) vai tirar sangue da veia em um dos braços, em pequena quantidade (10ml = duas colheres de chá). Os pesquisadores também vão pedir uma amostra de fezes.

Existe um desconforto e risco mínimos ao se submeter a entrevista mas os pesquisadores vão garantir que não lhe atrapalhe e se comprometem a não passar para outras pessoas as suas informações. Existe a chance de que seu(sua) filho(a) apresente algum problema por aceitar participar da pesquisa, por medir o peso ou a altura, por exemplo. Caso isso aconteça, avise aos professores ou aos pesquisadores. Estes se comprometem a ajudar o(a) Sr(a) e seu(sua) filho(a). Os pesquisadores lhes oferecerão ajuda profissional (psicólogos, por exemplo) e indenizações em caso de danos aos participantes.

Existe um desconforto e risco mínimos ao se submeter à coleta do sangue, mesmo sendo realizada por profissional treinado. Pode ocorrer dor causada pela agulha e podem se formar

pequenas manchas roxas que desaparecerão sozinhas após alguns dias. Raramente algumas pessoas desmaiam ou sofrem de uma infecção no local da coleta. A coleta será também acompanhada por Dra. Renata Lago (médica pesquisadora) que orientará como evitar hematomas e infecções. Caso aconteçam problemas mais graves, (raramente podem ocorrer desmaios, por exemplo), os pesquisadores irão acompanhar seu(sua) filho(a) à Unidade de Pronto Atendimento para que possam receber tratamento adequado (tomar soro se necessário ou tratar possíveis infecções relacionadas à punção venosa com uso de antibióticos tópicos (pomadas ou cremes) ou sistêmico (via oral ou injetável).

Serão realizados no sangue: hemograma e dosagem de ferritina (avaliação de anemia, entre outras doenças), glicemia (açúcar no sangue), colesterol e triglicérides (gorduras no sangue) e vitaminas (D e B). Nas fezes serão pesquisados parasitas (vermes) e análise da flora bacteriana (bichinhos que o olho humano não consegue ver) normal do intestino. As amostras de sangue serão guardadas durante o tempo da pesquisa e posteriormente descartadas (jogadas fora).

Você será esclarecido(a) sobre o resultado dos exames de seu(ua) filho(a). Se os exames forem normais, estão confirmadas suas boas condições de saúde. Além disso, seu filho continuará recebendo uma merenda escolar mais saudável, que constitui prevenção primordial de doenças no futuro (açúcar no sangue, pressão alta, por exemplo). Caso estejam alterados, os exames serão avaliados e seu filho será tratado pela equipe de pesquisadores.

Você receberá explicações sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar que seu(sua) filho(a) participe, desista ou interrompa a participação a qualquer momento. A participação é voluntária, ou seja, seu(sua) filho(a) participa se vocês quiserem. Se não quiserem, não serão prejudicados(as) em nada, não perderão nenhum benefício.

Se decidir não participar do estudo nada mudará no relacionamento de seu(sua) filho(a) na sua Escola. Depois de assinar o consentimento, você terá total liberdade de mudar de ideia e desistir da participação no estudo a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você ou seu(sua) filho(a).

A identidade de seu(sua) filho(a) não será revelada, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo (segredo) sobretudo. Os resultados dos exames laboratoriais realizados serão entregues para o Sr(a) e permanecerão confidenciais. O nome de seu(sua) filha(a) ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Serão escritos relatórios e textos (artigos científicos) sobre os resultados desta pesquisa, mas seu(ua) filho(a) não será identificado(a) em nenhum deles.

Este documento foi elaborado em duas vias iguais. Todas as páginas devem estar rubricadas ou com sua digital. Uma via deste consentimento informado será guardada pelos pesquisadores e a outra é sua. A participação no estudo não traz custos para você ou sua família e não será oferecida nenhuma quantia pela sua participação.

Eu, _____ fui informado(a) dos objetivos e dos riscos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e desistir de participar do estudo se eu quiser. Dra. Renata Lago e sua equipe me certificaram de que este estudo está sendo realizado de acordo com a Legislação e Resoluções do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em vigor. Em caso de dúvidas ou problemas poderei contatar Dra. Renata Lago no telefone (71) 98842-8495 a qualquer momento ou Professora Dra. Ana Marice Ladeia pelo telefone (71) 3276-8265 ou na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública no Setor de Pós-Graduação na Avenida Dom João VI, 275, Brotas - Salvador – Bahia (CEP 40.290-000). Se eu me sentir prejudicado por qualquer assunto relacionado a esta pesquisa posso também procurar o Comitê de Ética em Pesquisa no mesmo endereço ou pelo telefone (71) 32768225 ou e-mail

cep@bahiana.edu.br. Declaro que concordo em participar desse estudo. Assinei este termo de consentimento livre e esclarecido em duas vias após ter a oportunidade de ler e tirar minhas dúvidas.

Nome	Assinatura ou Digital do Pai ou Responsável	Data
------	---	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

Digital do Responsável



Apêndice C: Termo de assentimento (Grupo Exposto)

TERMO DE ASSENTIMENTO (GRUPO EXPOSTO)

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: AVALIAÇÃO DE UM PROJETO DE INTERVENÇÃO NA MERENDA ESCOLAR SOBRE A SAÚDE DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO SERTÃO DA BAHIA.

Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso tenha alguma palavra ou frase que você não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los. A proposta deste termo de Assentimento é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da redução de consumo de derivados animais (carnes, peixes, leite, manteiga, queijos, ovos) e o aumento de frutas (laranja, abacaxi, manga), verduras (couve, repolho), leguminosas (feijões, amendoim) e cereais integrais (milho, aveia) na Merenda Escolar de quatro municípios do Sertão da Bahia sobre a saúde dos estudantes, através de medidas de peso, altura, dobras da pele e pressão arterial além de exames de laboratório (sangue e fezes).

As escolas municipais de Serrinha, Biritinga, Barrocas e Teofilândia fazem parte de um programa que propõe melhorias para o meio ambiente. Vários estudos afirmam que uma alimentação rica em alimentos de origem vegetal e pobre em alimentos de origem animal pode prevenir doenças como aumento excessivo de peso (ficar gordo), açúcar no sangue, pressão alta, alguns tipos de câncer, etc. A Organização das Nações Unidas afirma que consumir menos alimentos de origem animal faz bem para o meio ambiente. As refeições a serem servidas na merenda escolar aos alunos foram reavaliadas por nutricionistas e médicos a fim de garantir que forneçam os nutrientes (substâncias boas para o corpo) que são necessários para o crescimento e desenvolvimento das crianças e adolescentes. As merendeiras fizeram cursos a fim de prepararem uma merenda mais saborosa. Além disso, a agricultura familiar na região será fortalecida e dela deverão ser adquiridos os alimentos a serem servidos nas escolas.

Todas essas ações vão mudar as refeições servidas na sua Escola. Por isso, convidamos você para participar deste estudo visando a avaliar o efeito desta nova merenda nas suas condições de saúde.

Se você concordar, responderá a um questionário sobre os alimentos que você come no dia a dia, atividades físicas que fazem parte da rotina e alguns dados importantes sobre nascimento, amamentação e dados familiares. Você será pesado(a), medido(a), e serão avaliadas as dobras da pele e a pressão arterial. Depois, você vai tirar sangue da veia em um dos braços, em pequena quantidade (10ml = duas colheres de chá). Os pesquisadores também vão pedir uma amostra de fezes.

Existe um desconforto e risco mínimos ao se submeter a entrevista mas os pesquisadores vão garantir que não lhe atrapalhe e se comprometem a não passar para outras pessoas as suas informações. Existe a chance de que você apresente algum problema por aceitar participar da pesquisa (vergonha de se pesar ou medir, por exemplo). Caso isso aconteça, avise aos pesquisadores. Estes se comprometem a lhe ajudar. Os pesquisadores lhes oferecerão ajuda profissional (psicólogos, por exemplo) e indenizações em caso de danos.

Existe um desconforto e risco mínimos ao tirar sangue, mesmo sendo realizada por profissional treinado. Pode ocorrer dor causada pela agulha e podem se formar pequenas manchas roxas que desaparecerão sozinhas após alguns dias. Raramente algumas pessoas desmaiam ou sofrem de uma infecção no local da coleta. A coleta será também acompanhada por Dra. Renata Lago (médica pesquisadora) que orientará como evitar hematomas e infecções. Caso aconteçam problemas mais graves, (raramente podem ocorrer desmaios, por exemplo), os pesquisadores irão lhe acompanhar à Unidade de Pronto Atendimento para que você possa receber tratamento adequado: tomar soro se necessário ou tratar possíveis infecções relacionadas à punção venosa com uso de antibióticos tópicos (pomadas ou cremes) ou sistêmico (via oral ou injetável).

Serão realizados no sangue: hemograma e dosagem de ferritina (avaliação de anemia, entre outras doenças), glicemia (açúcar no sangue), colesterol e triglicérides (gorduras no sangue) e vitaminas (D e B). Nas fezes serão pesquisados parasitas (vermes) e análise da flora bacteriana (bichinhos que o olho humano não consegue ver) normal do intestino. As amostras de sangue serão guardadas durante o tempo da pesquisa e posteriormente descartadas (jogadas fora).

Você e seu(s) pai(s) ou responsável(is) serão esclarecidos(as) sobre o resultado dos seus exames. Se os exames forem normais, estão confirmadas suas boas condições de saúde. Caso estejam alterados, os exames serão avaliados e tratados pela equipe de pesquisadores. Além disso, você continuará recebendo uma merenda escolar mais saudável, que constitui prevenção primordial de doenças no futuro (açúcar no sangue, pressão alta, por exemplo). Caso estejam alterados, os exames serão avaliados e você será tratado pela equipe de pesquisadores.

Você receberá explicações sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar sua participação, desistir ou interromper sua participação a qualquer momento. A participação é voluntária, ou seja, você só participa se você e seu(s) pai(s) quiserem. Se não quiserem, não serão prejudicados(as) em nada, não perderão nenhum benefício.

Se decidir não participar do estudo nada mudará no seu relacionamento na sua Escola. Depois de assinar o assentimento, você terá total liberdade de mudar de ideia e desistir da participação no estudo a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você.

Sua identidade não será revelada, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo (segredo) sobre tudo. Os resultados dos exames laboratoriais realizados serão entregues para você e seu(s) pai(s) e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Serão escritos relatórios e textos (artigos científicos) sobre os resultados desta pesquisa mas você não será identificado(a) em nenhum deles.

Este documento foi elaborado em duas vias iguais. Todas as páginas devem estar rubricadas ou com sua digital. Uma via deste consentimento informado será guardada pelos pesquisadores e a outra é sua. A participação no estudo não traz custos para você ou sua família e não será oferecida nenhuma quantia pela sua participação.

Eu, _____ fui informado(a) dos objetivos e dos riscos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e desistir de participar do estudo se eu quiser. Dra. Renata Lago e sua equipe me certificaram de que este estudo está sendo realizado de acordo com a Legislação e Resoluções do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em vigor. Em caso de dúvidas ou problemas poderei contatar Dra. Renata Lago no telefone (71) 98842-8495 a qualquer momento ou Professora Dra. Ana Marice Ladeia pelo telefone (71) 3276-8265 ou na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública no Setor de Pós-Graduação na Avenida Dom João VI, 275, Brotas - Salvador – Bahia (CEP 40.290-000). Se eu me sentir prejudicado por qualquer assunto relacionado a esta pesquisa posso também procurar

o Comitê de Ética em Pesquisa no mesmo endereço ou pelo telefone (71) 32768225 ou e-mail cep@bahiana.edu.br. Declaro que concordo em participar desse estudo. Assinei este termo de consentimento livre e esclarecido em duas vias após ter a oportunidade de ler e tirar minhas dúvidas.

Nome	Assinatura ou Digital do Participante	Data
------	--	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

Digital do Participante



Apêndice D: Termo de consentimento livre e esclarecido (Grupo Não Exposto)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO NÃO EXPOSTO)**

Seu (sua) filho(a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **AVALIAÇÃO DE UM PROJETO DE INTERVENÇÃO NA MERENDA ESCOLAR SOBRE A SAÚDE DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO SERTÃO DA BAHIA.**

Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso tenha alguma palavra ou frase que o(a) senhor(a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los. A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para seu(sua) filho(a) participar do mesmo.

O objetivo deste estudo é conhecer a composição da microbiota intestinal (bactérias que vivem no intestino) e investigar a existência de parasitoses intestinais (doenças causadas por vermes e outros parasitas) em escolares da rede municipal de ensino do Sertão da Bahia que não fazem parte do Programa Escola Sustentável.

Se você concordar em participar, irá responder um questionário sobre os alimentos que seu(sua) filho(a) come no dia a dia, atividades físicas que fazem parte da rotina e alguns dados importantes sobre nascimento, amamentação e dados familiares. Seu(sua) filho(a) será pesado(a), medido(a), serão avaliadas circunferência da cintura e pressão arterial, e serão coletadas amostras de fezes para exames.

Pode ser que exista algum desconforto ao participar da entrevista e das avaliações, como medir o peso ou a altura, por exemplo. Para evitar que isso aconteça, caso o(a) estudante se sinta constrangido(a), a avaliação será feita em ambiente reservado. Os pesquisadores lhes oferecerão ajuda profissional (psicólogos, por exemplo) e indenizações em caso de danos aos participantes. Você será esclarecido(a) sobre o resultado da avaliação clínica de seu(ua) filho(a). Se o exame clínico for normal, estão confirmadas suas boas condições de saúde. Caso estejam alterados (pressão alta, baixa estatura, peso elevado, presença de parasitoses), os participantes serão avaliados e tratados pela equipe de pesquisadores.

A participação é voluntária, ou seja, seu(sua) filho(a) participa se vocês quiserem. Se decidir não participar do estudo nada mudará no relacionamento de seu(sua) filho(a) na sua Escola, nem haverá perda de nenhum benefício. Você é livre para recusar que seu(sua) filho(a) participe e, mesmo depois de assinar este termo, você terá total liberdade de mudar de ideia e desistir da participação no estudo a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você ou seu(sua) filho(a).

A identidade de seu(sua) filho(a) não será revelada, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo (segredo) sobre tudo. Serão escritos relatórios e textos (artigos científicos) sobre os resultados desta pesquisa, mas seu(ua) filho(a) não será identificado(a) em nenhum deles.

Este documento foi escrito em duas vias iguais. Todas as páginas devem estar rubricadas ou com sua digital. Uma via deste consentimento informado será guardada pelos pesquisadores e a outra é sua. A participação no estudo não traz custos para você ou sua família e não será oferecida nenhuma quantia pela sua participação.

Eu, _____ fui informado(a) dos objetivos e dos riscos da pesquisa de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer

momento poderei solicitar novas informações e desistir de participar do estudo se eu quiser. Dra. Renata Lago e sua equipe me certificaram de que este estudo está sendo realizado de acordo com a Legislação e Resoluções do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em vigor. Em caso de dúvidas ou problemas poderei contatar Dra. Renata Lago no telefone (71) 98842-8495 a qualquer momento ou Professora Dra. Ana Marice Ladeia pelo telefone (71) 3276-8265 ou na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública no Setor de Pós-Graduação na Avenida Dom João VI, 275, Brotas - Salvador – Bahia (CEP 40.290-000). Se eu me sentir prejudicado por qualquer assunto relacionado a esta pesquisa posso também procurar o Comitê de Ética em Pesquisa no mesmo endereço ou pelo telefone (71) 3276-8225 ou e-mail cep@bahiana.edu.br. Declaro que concordo em participar desse estudo. Assinei este termo de consentimento livre e esclarecido em duas vias após ter a oportunidade de ler e tirar minhas dúvidas.

Nome	Assinatura ou Digital do Responsável	Data
------	--------------------------------------	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

Digital do Responsável



Apêndice E: Termo de assentimento (Grupo Não Exposto)**TERMO DE ASSENTIMENTO (GRUPO NÃO EXPOSTO)**

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **AValiação DE UM PROJETO DE INTERVENÇÃO NA MERENDA ESCOLAR SOBRE A SAÚDE DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO SERTÃO DA BAHIA.**

Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso tenha alguma palavra ou frase que você não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los. A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão participar do mesmo.

O objetivo deste estudo é conhecer a composição da microbiota intestinal (bactérias que vivem no intestino) e investigar a existência de parasitoses intestinais (doenças causadas por vermes e outros parasitas) em escolares da rede municipal de ensino do Sertão da Bahia que não fazem parte do Programa Escola Sustentável.

Se você concordar em participar, irá responder um questionário sobre os alimentos que come no dia a dia, atividades físicas que fazem parte da rotina e alguns dados importantes sobre nascimento, amamentação e dados familiares. Você será pesado(a), medido(a), serão avaliadas circunferência da cintura e pressão arterial, e serão coletadas amostras de fezes para exames.

Pode ser que exista algum desconforto ao participar da entrevista e das avaliações, como medir o peso ou a altura, por exemplo. Para evitar que isso aconteça, caso você se sinta constrangido(a), a avaliação será feita em ambiente reservado. Os pesquisadores lhes oferecerão ajuda profissional (psicólogos, por exemplo) e indenizações em caso de danos aos participantes. Você será esclarecido(a) sobre o resultado da sua avaliação clínica. Se o exame clínico for normal, estão confirmadas suas boas condições de saúde. Caso estejam alterados (pressão alta, baixa estatura, peso elevado, presença de parasitoses), você será avaliado(a) e tratado(a) pela equipe de pesquisadores.

A sua participação na pesquisa é voluntária, ou seja, você participa se quiser. Se decidir não participar do estudo, nada mudará no seu relacionamento na sua Escola, nem haverá perda de nenhum benefício. Você é livre para recusar a participação agora e, mesmo depois de assinar este termo, terá total liberdade de mudar de ideia e desistir da participação a qualquer momento sem nenhum prejuízo.

A sua identidade não será revelada, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo (segredo) sobre tudo. Serão escritos relatórios e textos (artigos científicos) sobre os resultados desta pesquisa, mas você não será identificado(a) em nenhum deles.

Este documento foi escrito em duas vias iguais. Todas as páginas devem estar rubricadas ou com sua digital. Uma via deste consentimento informado será guardada pelos pesquisadores e a outra é sua. A participação no estudo não traz custos para você ou sua família e não será oferecida nenhuma quantia pela sua participação.

Eu, _____ fui informado(a) dos objetivos e dos riscos da pesquisa de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e desistir de participar do estudo se eu quiser. Dra. Renata Lago e sua equipe me certificaram de que este estudo está sendo realizado de acordo com a Legislação e Resoluções do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

em vigor. Em caso de dúvidas ou problemas poderei contatar Dra. Renata Lago no telefone (71) 98842-8495 a qualquer momento ou Professora Dra. Ana Marice Ladeia pelo telefone (71) 3276-8265 ou na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública no Setor de Pós-Graduação na Avenida Dom João VI, 275, Brotas - Salvador – Bahia (CEP 40.290-000). Se eu me sentir prejudicado por qualquer assunto relacionado a esta pesquisa posso também procurar o Comitê de Ética em Pesquisa no mesmo endereço ou pelo telefone (71) 3276-8225 ou e-mail cep@bahiana.edu.br. Declaro que concordo em participar desse estudo. Assinei este termo de consentimento livre e esclarecido em duas vias após ter a oportunidade de ler e tirar minhas dúvidas.

Nome	Assinatura ou Digital do Responsável	Data
------	--------------------------------------	------

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

Digital do Responsável

