

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia

**RELAÇÃO ENTRE MICROBIOTA INTESTINAL E PROGRESSÃO DA DOENÇA
RENAL CRÔNICA**

Victória Cavalcante Sousa

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de
São Paulo.

Orientador:
Prof. Dr. Christian Hoffmann

São Paulo
2025

Sumário

Listas de Abreviaturas.....	1
Resumo.....	2
1. Introdução.....	3
1.1. Doença renal crônica.....	3
1.2. A relação entre a microbiota intestinal e as alterações renais.....	4
1.3. Sequenciamentos genômicos.....	6
1.4. Métricas de diversidade.....	7
2. Objetivos.....	8
3. Material e Métodos.....	8
3.1. Critérios de seleção do banco de dados.....	8
3.2. Tratamento dos dados metagenômicos.....	9
3.2.1. Ambiente de análise bioinformática.....	9
3.3. Análise bioinformática e estatística.....	10
4. Resultados.....	11
4.1. Caracterização da coorte de estudo.....	11
4.2. Caracterização global da microbiota por alfa-diversidade.....	12
4.2.1. A composição de microbiota não varia entre os estados saudável e não-saudável.....	12
4.2.2. As covariáveis não são moduladas pela alfa-diversidade.....	13
4.3. Caracterização específica da microbiota por beta-diversidade.....	14
4.3.1. O estado de saúde e covariáveis clínicas explicam a variância de beta-diversidade.....	15
4.3.2. Existem bactérias associadas a perda de função renal.....	16
4.3.3. A composição da microbiota não distingue os estados de saúde.....	19
4.4. Existe diferença de composição da microbiota intestinal entre os pacientes com DRET e indivíduos saudáveis.....	22
5. Discussão.....	24
6. Conclusão.....	27
7. Aspectos Éticos.....	27
8. Referências.....	28
9. Anexos.....	33

Lista de Abreviaturas

Cr	Creatinina
DRC	Doença Renal Crônica
DRET	Doença Renal em Estágio Terminal
eGFR	Ritmo de Filtração Glomerular Estimado
ENA	European Nucleotide Archive
FTP	File Transfer Protocol (FTP)
IC	Intervalo de Confiança
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Ur	Ureia
USP	Universidade de São Paulo
PAM	Partitioning Around Medoids
PCoA	Análise de Coordenadas Principais
rRNA	Ácido Ribonucléico Ribossômico
SGB	Species-level Genome Bins
SRA	Sequence Read Archive
STI	Superintendência da Tecnologia da Informação

Resumo

SOUZA, V. C. Relação entre microbiota intestinal e progressão da doença renal crônica. 2025. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2025.

Palavras-chave: Doença renal crônica (DRC); Ritmo de filtração glomerular estimado (eGFR); Microbiota intestinal; Táxons; Diversidade.

INTRODUÇÃO: A doença renal crônica (DRC) afeta aproximadamente 10% da população mundial e cerca de 10 milhões de brasileiros. A DRC caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível da função renal, sendo classificada em cinco estágios que variam de disfunção renal leve (estágio 1) a doença renal em estágio terminal (DRET). Atualmente, o tratamento desse quadro é focado em medidas preventivas para retardar a progressão da doença e evitar a necessidade de terapias de substituição renal, como diálise ou transplante. No entanto, novas abordagens estão sendo investigadas. Pesquisas recentes apontam que a microbiota intestinal desempenha um papel importante na DRC, modulando a inflamação sistêmica e a produção de metabólitos tóxicos que podem agravar o dano renal.

OBJETIVO: O objetivo principal do presente trabalho é avaliar a relação entre a composição do microbioma intestinal e o ritmo de filtração glomerular estimado (eGFR) em pacientes com DRC, utilizando dados disponíveis em bancos de dados.

RESULTADOS: A análise de alfa-diversidade demonstrou que não houve diferença entre os grupos controle e DRET. Da mesma forma, a alfa-diversidade não influenciou as covariáveis clínicas (eGFR, ureia e creatinina). Por meio da beta-diversidade, apesar de haver uma sobreposição das composições de microbiota entre os grupos, observou-se uma diferença significativa entre os estados de saúde. Diferentemente da alfa-diversidade, as covariáveis clínicas mostraram-se influenciar significativamente a variação de beta-diversidade entre os grupos. Do ponto de vista estritamente de bactérias e função renal, existem espécies associadas tanto a função renal preservada, quanto a taxas de filtração reduzidas, como *Dysosmobaacter welbionis* e *Neobittarella massiliensis*, que relacionavam-se a menor eGFR. Entretanto, quando se buscou verificar o potencial de aplicar a composição da microbiota intestinal como indicador do estado de saúde, a microbiota se mostra insuficiente para tal.

CONCLUSÃO: O atual trabalho demonstrou que pacientes com DRET possuem uma microbiota distinta de indivíduos saudáveis, corroborando com achados prévios de outras pesquisas. Foram observadas associações significativas entre bactérias produtoras de toxinas e perda de função renal, assim como de espécies produtoras de metabólitos benéficos e função renal preservada. Sobre as limitações do presente trabalho, a amostra utilizada foi constituída de um número restrito de participantes, além de análises metabolômicas não terem sido conduzidas para se estabelecer relações causais do que se observou, o que pode ser muito promissor de ser buscado em trabalhos futuros.

1. Introdução

1.1. Doença renal crônica

A doença renal crônica (DRC) acomete cerca de 10% da população mundial e, aproximadamente, 10 milhões de brasileiros possuem alguma disfunção dos rins. Nos Estados Unidos, estima-se que essa condição gera gastos anuais que alcançam US\$ 48 bilhões. Já no Brasil, entre 2012 e 2022, os gastos hospitalares com pacientes renais chegaram a mais de R\$ 4 bilhões (Yang *et al.*, 2018; Ministério da Saúde, 2023; Duarte *et al.*, 2023).

A DRC é definida como uma perda de função renal progressiva e irreversível por variadas etiologias, sendo caracterizada pela presença de dano renal ou um ritmo de filtração glomerular estimado (eGFR) inferior a 60 mL/min/1,73 m², persistindo por 3 meses ou mais. Considerando essa natureza de perda contínua de atividade renal, a DRC pode ser dividida em 5 estágios com base no eGFR (Titan, 2013; Vaidya e Aeddula, 2024):

- Estágio 1: eGFR > 90 mL/min/1,73 m²
- Estágio 2: eGFR entre 60 a 89 mL/min/1,73 m²
- Estágio 3: eGFR entre 30 a 59 mL/min/1,73 m²
- Estágio 4: eGFR entre 15 a 29 mL/min/1,73 m²
- Estágio 5: eGFR < 15 mL/min/1,73 m²

Atualmente, a DRC em estágio inicial é tratada por medidas preventivas que se concentram em controlar os níveis pressóricos e glicêmicos, além de reduzir o consumo de proteínas e sal, e prevenir a ocorrência de lesão renal aguda. Tais condutas visam promover uma evolução lentificada da perda progressiva de função objetivando distanciar o paciente, pelo maior tempo possível, da doença renal em estágio terminal (DRET), cujo tratamento se baseia nas terapias de reposição renal por diálise ou transplante (Yang *et al.*, 2018).

Diante disso, existem diferentes linhas de pesquisa que buscam novas metodologias para diagnosticar precocemente, tratar, estabilizar e até mesmo curar a DRC. Recentemente, com a busca por novas terapias para esse quadro, a intervenção no eixo intestino-rim tem recebido destaque. Há uma ascensão dos

conhecimentos gerados acerca do papel da microbiota intestinal no desenvolvimento da DRC, haja vista que a microbiota intestinal está em ampla comunicação com diversos órgãos e sistemas do corpo humano (cérebro, rim, medula óssea, sistema vascular, sistema imunológico e sistema nervoso autônomo) (Yang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2023).

1.2. A relação entre a microbiota intestinal e as alterações renais

O termo microbiota é usado para nomear o conjunto de microrganismos que colonizam um sítio específico do organismo, como o intestino. A microbiota intestinal compreende mais de 100 trilhões de células microbianas, abrigando cerca de 500 a 1000 espécies diferentes em um único indivíduo (Qin *et al.*, 2010; Rysz *et al.*, 2021). A composição da microbiota humana não é imutável e, desde o nascimento até o final da vida, passa por modificações adaptativas moldadas por idade, sexo, etnia, região de habitação, dieta e genética do indivíduo (Nallu *et al.*, 2017). Além disso, a microbiota de cada indivíduo é única, mas de maneira global é composta principalmente por bactérias dos filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes* e *Actinobacteria*. Já os gêneros mais frequentes são *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Ruminococcus* e *Enterococcus*, que pertencem ao filo *Firmicutes* (Mafra *et al.*, 2023).

No estado saudável, a microbiota está em simbiose, isto é, com a composição e as funções preservadas em sua normalidade esperada. De acordo com descobertas dos últimos anos, diferentes doenças têm sua patogênese ligada ao estado disbiótico da microbiota intestinal, o qual é definido por alterações quantitativas e qualitativas na composição e funções (Nallu *et al.*, 2017). Estudos prévios comprovaram que a composição e as funções da microbiota intestinal estão alteradas em pacientes com DRC (Vaziri *et al.*, 2013; Wong *et al.*, 2014; Rysz *et al.*, 2021).

A interação entre o intestino e o rim se estabelece através da ativação do sistema imune e dos metabólitos produzidos pela microbiota. De modo que, a microbiota intestinal possui uma importante função no controle da imunidade local e sistêmica, sendo previamente observado que os estados microinflamatórios característicos dos pacientes com DRC são agravados pela microbiota disbiótica (Salvadori e Tsalouchos, 2021; Li *et al.*, 2023). Além disso, foi demonstrado que a evolução para DRET está relacionada com a produção excessiva de metabólitos

tóxicos pela microbiota disbiótica e o consequente acúmulo destes devido a perda da capacidade de eliminação pelos rins debilitados (Rysz *et al.*, 2021).

Diante disso, pode-se compreender que há uma relação bidirecional entre o estado da microbiota intestinal e a evolução da DRC. Em suma, a lesão renal resulta no acúmulo de metabólitos no organismo por déficit na excreção, o que provoca a disbiose na microbiota ao alcançarem o intestino. Em consequência a isso, ocorrem danos na barreira epitelial intestinal, levando a migração de patógenos e toxinas da cavidade intestinal para a circulação sanguínea que gerará um aumento da resposta inflamatória sistêmica, resultando no agravamento da DRC (Lei *et al.*, 2022). Em adição a isso, o processo de fermentação de aminoácidos que ocorre no intestino produz os metabólitos indoxil sulfato, p-cresil sulfato e N-óxido de trimetilamina (TMAO), os quais são excretados via secreção tubular renal e, portanto, são encontrados em excesso em pacientes com a função renal prejudicada (Al Khodor e Shatat, 2017). Em estudos anteriores, tais metabólitos foram identificados como marcadores da progressão da DRC e associados ao maior risco de morte para os pacientes com DRET (Tang *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2011).

No que concerne a interação intestino-rim por regulação do sistema imune, o tecido intestinal se torna permeável e permite a saída de bactérias devido a inflamação desse sítio mediada por células Th17, neutrófilos e macrófagos M1, que é ocasionada pela disbiose intestinal provocada pela lesão renal. Ademais, a translocação de bactérias de origem intestinal para a circulação sanguínea promove a ativação da imunidade inata, reforçando o estado inflamatório da DRC (Cigarran Guldris *et al.*, 2017). Entretanto, o desequilíbrio imune também ocorre no sentido contrário. Já fora previamente demonstrado que a ativação de células Th17 no intestino recruta esses mesmos tipos celulares para o rim. Isto é um fenômeno importante considerando que pacientes com doenças renais autoimunes e glomerulonefrites apresentam altos níveis de células Th17, o que as relaciona com as lesões teciduais que são observadas nesses quadros (Salvadori e Tsalouchos, 2021).

Entre as evidências disponíveis acerca da microbiota disbiótica presente na DRC, foi observado que nas fezes de pacientes com DRC em estágios mais avançados e que ainda não estavam em diálise, há redução de bactérias anaeróbias e aumento de bactérias aeróbias em comparação com indivíduos saudáveis (Amini Khiabani *et al.*, 2023). Em outro estudo com pacientes de DRET foi registrada uma

abundância maior das famílias *Brachybacterium*, *Catenibacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Halomonadaceae*, *Moraxellaceae*, *Nesterenkonia*, *Polyangiaceae*, *Pseudomonadaceae* e *Thiothrix* em comparação com o grupo controle (Vaziri *et al.*, 2013).

Ainda foi previamente determinado que a quantidade total de bactérias nas fezes e o número de bactérias produtoras de butirato (*Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Clostridium*, *Coprococcus* e *Prevotella*) em pacientes com DRET é inferior ao encontrado em indivíduos saudáveis, ao passo que o gênero *Ruminococcus torques*, que contribui para a diminuição da integridade da barreira intestinal, está aumentado (Jiang *et al.*, 2017; Swarte *et al.*, 2022). Em complementaridade a esses achados, uma metanálise demonstrou que, em pacientes com doença renal, os gêneros *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* e *Streptococcus* eram aumentados, enquanto *Prevotellaceae*, *Prevotella* e *Roseburia* estavam reduzidos em relação aos controles saudáveis (Stanford *et al.*, 2020).

Diante de tais evidências, pode-se sugerir que os microrganismos que formam a microbiota intestinal são importantes potenciais marcadores da DRC que podem ser aplicados para o diagnóstico precoce e avaliação da progressão do quadro (Amini Khiabani *et al.*, 2023). Novas terapias que promovam a manutenção de um ambiente intestinal simbiótico podem ser consideráveis alternativas como tratamentos para retardar a evolução da DRC (Swarte *et al.*, 2022). Para isso, existe a grande necessidade de mais estudos que abordem os efeitos de intervenções no eixo intestino-rim e as relações de causalidade entre a disbiose intestinal e a DRC.

1.3. Sequenciamentos genômicos

Existem diferentes técnicas de sequenciamento genômico que podem ser aplicadas para identificar os táxons que compõem a microbiota de um indivíduo, como o sequenciamento por shotgun e o sequenciamento do gene 16S rRNA.

O shotgun é um método que envolve a quebra aleatória do genoma em pequenos fragmentos de DNA para sequenciá-los individualmente. Posteriormente, através de um programa, reconstitui-se todo o genoma através da sobreposição de cada sequência para identificar o organismo (Quince *et al.*, 2017).

O sequenciamento do gene 16S rRNA baseia-se na reconstrução da filogenia bacteriana através do RNA ribossômico, pois, o 16S é o gene codificador do rRNA em todas as bactérias. Nessa técnica, pode-se utilizar métodos de clonagem,

sequenciamento, digestão enzimática ou hibridização de sondas para caracterizar o 16S rRNA. Após isso, compara-se as sequências obtidas com bancos de dados para identificar o organismo (CD Genomics, 2024).

1.4. Métricas de diversidade

A diversidade microbiana é essencial para caracterizar comunidades bacterianas, como a microbiota intestinal, sendo possível avaliá-la através de métricas alfa e beta de diversidade. A alfa-diversidade refere-se à variedade e à uniformidade de espécies dentro de uma única amostra. Essa medida combina a riqueza de espécies (número total de táxons presentes) estimada por métricas (como o estimador de Chao1) e a equitabilidade (grau de uniformidade na distribuição de abundâncias) mensurada por índices (como o de Shannon e o de Simpson) (Whittaker, 1972; Chao, 1984; Shannon; Weaver, 1949; Simpson, 1949).

Em contraste, a beta-diversidade quantifica as diferenças de composição microbiana entre diferentes amostras ou grupos de amostras. É calculada por meio de medidas de dissimilaridade ou distância, as quais capturam variações na presença ou ausência e nas abundâncias relativas de táxons. O índice de Bray–Curtis considera diretamente as diferenças de abundância entre duas amostras (Bray; Curtis, 1957), enquanto métricas filogenéticas (como o UniFrac) incorporam ainda a relação evolutiva entre táxons para avaliar as dissimilaridades (Lozupone; Knight, 2005). A análise de beta-diversidade é comumente utilizada em métodos de ordenação (como a PCoA) e em testes estatísticos (ex. PERMANOVA), permitindo investigar se fatores clínicos, e até mesmo categóricos, explicam a variação na composição da microbiota (Anderson; Walsh, 2013).

A aplicação integrada dos índices de diversidade alfa e beta é amplamente empregada em estudos de microbioma humano. A métrica alfa informa sobre a saúde interna e o equilíbrio das comunidades microbianas em cada indivíduo, ao passo que a medida beta revela padrões de dissimilaridade entre pacientes, contribuindo para o entendimento dos mecanismos de disbiose associados a doenças (Whittaker, 1972).

Nos últimos anos, surgiram ferramentas e métricas adicionais que ampliam a profundidade das análises de diversidade microbiana. No ambiente R, o pacote phyloseq integra importação de dados, filtragem, normalização e estimativas de diversidade alfa e beta, além de visualizações interativas (Mcmurdie; Holmes, 2013).

Estudos de larga escala, como o American Gut Project (McDonald et al., 2018) e o Earth Microbiome Project (Thompson et al., 2017), têm estabelecido bases de referência globais para as métricas alfa e beta, permitindo comparações interprojetos e aprofundando a compreensão sobre os determinantes de disbiose em saúde e doença.

2. Objetivos

Objetivo geral: O objetivo deste trabalho é avaliar a relação entre o microbioma intestinal e a DRC usando dados disponíveis em bancos de dados.

Objetivos específicos:

- Analisar as variações de composição da microbiota intestinal em pacientes adultos com doença renal e indivíduos saudáveis por meio de medidas de alfa e beta diversidade;
- Correlacionar táxons bacterianos detectados no microbioma gastrointestinal e eGFR, creatinina e ureia;
- Desenvolver habilidades de análise bioinformática e estatística relacionadas a dados do microbioma gastrointestinal humano.

3. Material e Métodos

3.1. Critérios de seleção do banco de dados

Foram utilizados dados extraídos do artigo “*Aberrant gut microbiota alters host metabolome and impacts renal failure in humans and rodents*”, cuja investigação se concentrou no contraste de composição da microbiota intestinal de pacientes adultos diagnosticados com doença renal em estágio terminal (DRET) em relação a pacientes controles saudáveis.

A seleção desse estudo foi feita a partir de pesquisas em bases científicas, como o PubMed e o Google Acadêmico. Os critérios descritos abaixo foram aplicados para definir o material que seria utilizado.

- Investigação original que avaliasse a microbiota intestinal de pacientes adultos com doença renal crônica (DRC) e/ou doença renal em estágio terminal (DRET) em comparação a controles saudáveis;
- Pesquisa que obtivesse os dados a partir de amostras de fezes humanas;

- Estudo que disponibilizasse os dados brutos de sequenciamento do microbioma intestinal em bases de dados com livre acesso, como European Nucleotide Archive (ENA), Mgnify, NCBI Sequence Read Archive (SRA), entre outras;
- Trabalho que fornecesse os dados descritivos e clínicos de cada participante incluído na coorte;
- Artigo publicado em língua inglesa.

3.2. Tratamento dos dados metagenômicos

O estudo fonte apresentou uma coorte de 223 pacientes com DRET de centros de hemodiálise e 69 pacientes controles saudáveis, todos residentes de Beijing, China. Para o presente trabalho, optou-se por reduzir a coorte a ser analisada em uma nova amostragem baseada na idade dos indivíduos. Dessa forma, a coorte utilizada nas análises foi constituída por 61 pacientes com idade ≥ 41 anos e ≤ 50 anos.

Os dados brutos da investigação eleita foram obtidos através de sequenciamento metagenômico shotgun e hospedados no ENA, enquanto as variáveis categóricas (gênero e idade) e clínicas (eGFR, creatinina e ureia) de cada participante encontravam-se listadas no Metabolights. Os dados foram extraídos de ambas as plataformas e as sequências metagenômicas foram processadas através do programa MetaPhlAn. As análises estatísticas foram conduzidas no software R Studio (*version 2025.05.0+496*).

3.2.1. Ambiente de análise bioinformática

O processamento dos dados metagenômicos de sequenciamento foi realizado no cluster Águia, o cluster da Universidade de São Paulo (USP). Um cluster é uma rede de computadores de alta performance com capacidade de processar grandes volumes de dados de forma rápida e muito eficiente (Flinders, Smalley, 2024). O Cluster Águia é constituído por 140 servidores físicos com 20 cores e 512 GB de RAM. O processador é Intel(R) Xeon(R) CPU E7- 2870 @ 2.40GHz, acompanhado de um sistema de arquivos (Filesystem) com 256 TB para arquivos temporários (Universidade de São Paulo, 2025). Para utilizá-lo no presente trabalho, foi solicitado o acesso ao sistema para o STI da USP.

O MobaXterm foi a ferramenta utilizada para acessar o Águia USP. Os clusters, em geral, podem ser acessados remotamente através do próprio computador do usuário por via do prompt de controle. Porém, o MobaXterm proporciona um sistema de interação mais intuitivo. Para o desenvolvimento do presente trabalho, a versão *MobaXterm_Portable_v25.0* foi instalada através da opção “*Home Edition Free*” pelo site oficial (mobaxterm.mobatek.net/).

Apesar de os clusters serem aplicados para o processamento de Big Data, não é possível realizar o download de arquivos diretamente na rede de computadores, fazendo-se necessário realizar a transferência do computador do usuário para o servidor. Portanto, os dados brutos de sequenciamento foram baixados e depois movidos para o Águia USP através do FTP FileZilla. A versão *FileZilla_3.69.0_win64-setup* foi instalada através da opção “*Download FileZilla Client for Windows (64 bit x 86)*” pelo site oficial (filezilla-project.org/).

3.3. Análise bioinformática e estatística

Os dados do sequenciamento metagenômico selecionados foram analisados usando a ferramenta Metaphlan v. 4.1.1 (Biobakery, 2024). O Metaphlan faz a identificação dos táxons microbianos presentes no sequenciamento metagenômico usando diversos genes marcadores. Os resultados produzidos pelo Metaphlan foram importados para o ambiente R de computação estatística (Posit, 2025). Para conduzir uma análise mais centrada, foi aplicado um filtro nos táxons bacterianos identificados pelo Metaphlan para que as análises fossem conduzidas apenas com o nível espécie, excluindo as classificações anteriores (filo, classe, ordem, família, gênero) e posterior (Species-level Genome Bins - SGBs). Para tanto foi usado o pacote stringr, resultando em uma matriz de abundância (das espécies identificadas em cada amostra).

A proporção relativa dos táxons microbianos obtidos, após o filtro de classificação, foi utilizada para calcular métricas de diversidades alfa e beta. A alfa-diversidade foi calculada com o índice de Shannon através do pacote phyloseq (Mcmurdie; Holmes, 2013) e a comparação entre os grupos (DRET vs controle) foi feita com o teste de Wilcoxon (função wilcox.test). Além disso, com o pacote broom, ajustou-se modelos de regressão linear univariados (lm) para investigar associações de alfa-diversidade com as covariáveis clínicas (eGFR, ureia e creatinina).

A beta-diversidade foi calculada com o pacote vegan usando a distância de Bray-Curtis e sua relação com as covariáveis foi testada por PERMANOVA (Anderson, 2001). A homogeneidade de dispersão entre grupos foi avaliada com a função betadisper seguida de uma ANOVA. Para testar diferenças globais na comunidade microbiana, aplicou-se PERMANOVA univariada para avaliar individualmente cada covariável.

Para as análises de agrupamento e PCoA, o número ótimo de clusters foi definido por pela função PAM e avaliado via silhueta com o pacote factoextra. A PCoA foi obtida e plotada através do pacote ggplot2, apresentando as duas primeiras componentes e elipses de 95% de confiança para cada grupo. Para cada espécie, ainda realizou-se ANOVA univariada para identificar os táxons com $p < 0,05$. As espécies significativas foram então submetidas a correlações de Spearman contra o eGFR, reportando coeficiente rho e valor de p. O eGFR foi o principal parâmetro utilizado para comparação das composições de microbiota entre os grupos estudados (controle e DRET). Os níveis séricos de creatinina e ureia também foram usados para testes de associação através da regressão de Pearson.

Por fim, para cada táxon, realizou-se um teste-T comparando as abundâncias relativas das espécies entre os grupos e calculando o valor de p. As bactérias com $p < 0,05$ foram ordenadas de forma crescente pela significância e usadas para compor um heatmap de abundâncias com anotações de grupo para visualizar os táxons que se diferenciam entre os estados de saúde.

4. Resultados

4.1. Caracterização da coorte de estudo

O grupo controle ($N = 19$) foi composto por 12 mulheres (63,2 %) e 7 homens (36,8 %) com idade média de $45,37 \pm 2,71$ anos. A eGFR foi de $105,63 \pm 8,83$ mL/min/1,72 m², enquanto a creatinina e a ureia séricas médias foram $63,04 \pm 10,20$ µM/L e $4,64 \pm 0,84$ mM/L, respectivamente.

Já o grupo DRET ($N = 42$) incluiu 16 mulheres (38,1 %) e 26 homens (61,9 %) com idade média de $45,71 \pm 2,92$ anos. Esses indivíduos apresentaram eGFR significativamente reduzido ($4,68 \pm 2,17$ mL/min/1,72 m²), assim como tiveram elevações dos níveis séricos de Cr ($1005,00 \pm 268,70$ µM/L) e Ur ($25,72 \pm 6,83$ mM/L), conforme é esperado para pacientes com disfunção renal.

As características demográficas e clínicas dos participantes estão resumidas abaixo na Tabela 1.

Tabela 1: Características da coorte de estudo.

Grupo	Gênero	Idade (anos)	eGFR (mL/min/1.72 m ²)	Cr sérica (mM/L)	Ur sérica (mM/L)
Controle	F: 12 (63,2 %) M: 7 (36,8 %)	45,37 ± 2,71	105,63 ± 8,83	63,04 ± 10,20	4,64 ± 0,84
DRET	F: 16 (38,1 %) M: 26 (61,9 %)	45,71 ± 2,92	4,68 ± 2,17	1025,00 ± 268,70	25,72 ± 6,83

*Valores contínuos expressos como média ± desvio-padrão. Variáveis categóricas apresentadas como frequência absoluta (n) e percentual (%). Legenda: sexo feminino (F); seco masculino (M); ritmo de filtração glomerular estimada (eGFR); creatinina sérica (Cr sérica); ureia sérica (Ur sérica).

4.2. Caracterização global da microbiota por alfa-diversidade

Para os cálculos de alfa diversidade foi usada a tabela filtrada contendo a abundância relativa de 1.217 espécies bacterianas identificadas.

4.2.1. A composição de microbiota não varia entre os estados saudável e não-saudável

Para avaliar a riqueza e a homogeneidade da microbiota em cada indivíduo, foi calculado o índice de diversidade de Shannon (Tabela 2). Os índices obtidos mostram que não há diferença estatística entre os grupos quando avaliados por teste de Wilcoxon ($W = 398$ e $p = 0,99$). Portanto, para esse conjunto de amostras, a diversidade global da microbiota intestinal, medida pelo índice de Shannon, não difere de forma marcante entre indivíduos saudáveis e pacientes com DRET.

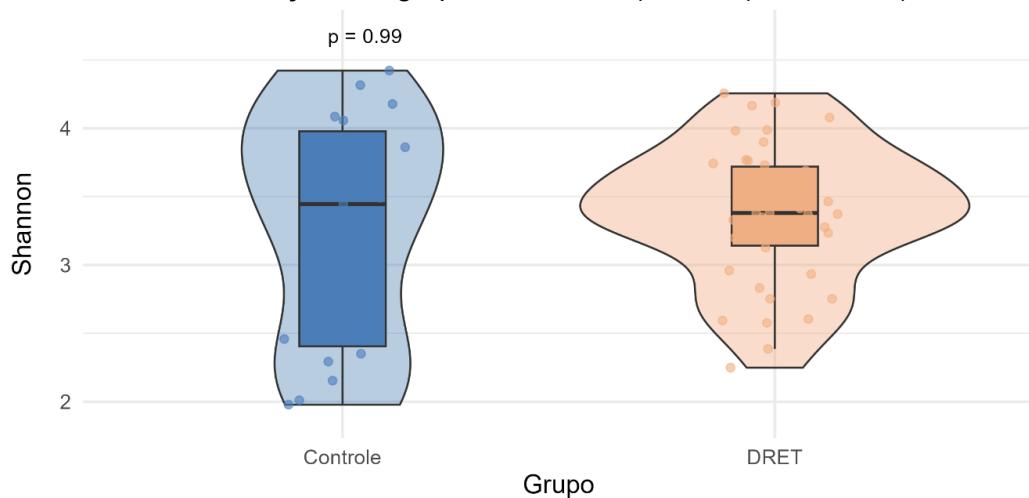
Tabela 2: Índice de Shannon.

Grupo	N	Shannon
Controle	19	3,2797 ± 0,8373
DRET	42	3,3769 ± 0,4999

*Valores expressos como média ± desvio-padrão.

O gráfico plotado para essa análise de alfa-diversidade (Figura 1) reforça as distribuições semelhantes nos dois grupos estudados. Os valores de Shannon variaram entre 1,9 e 4,4 para os pacientes controle (mediana = 3,45), enquanto para DRET houve oscilação dos índices entre 2,2 e 4,2 (mediana = 3,38). Nota-se ainda que, para ambos os grupos, os violinos apresentam alargamento na região central, mostrando que os resultados de Shannon concentram-se próximos à mediana. Para o grupo controle, o violino alarga-se um pouco mais acima da mediana por ocorrer uma frequência levemente maior de amostras com valores elevados de alfa-diversidade. Já para o grupo DRET, a largura máxima do violino é mais uniforme em torno da mediana com afinamento mais simétrico para cima e para baixo, mostrando que existe uma distribuição mais homogênea de alfa-diversidade entre essas amostras.

Figura 1: Gráfico de violino de Shannon vs. Grupo. O gráfico demonstra os valores de Shannon e sua distribuição aos grupos “Controle” (em azul) e “DRET” (em salmão).



4.2.2. As covariáveis não são moduladas pela alfa-diversidade

Foram feitas regressões lineares univariadas de Pearson para avaliar a relação da alfa-diversidade com eGFR e níveis séricos de ureia e creatinina. Porém, conforme descrito abaixo na Tabela 3, não foi observada associação estatisticamente significativa para nenhum dos casos (todos os valores de $p > 0,05$). Os coeficientes angulares de regressão (β) foram próximos de zero (com exceção da creatinina) e os modelos explicaram menos de 2% da variação na diversidade (R^2 entre 0,002 e 0,010), sugerindo ausência de efeito relevante da alfa-diversidade sobre as covariáveis clínicas.

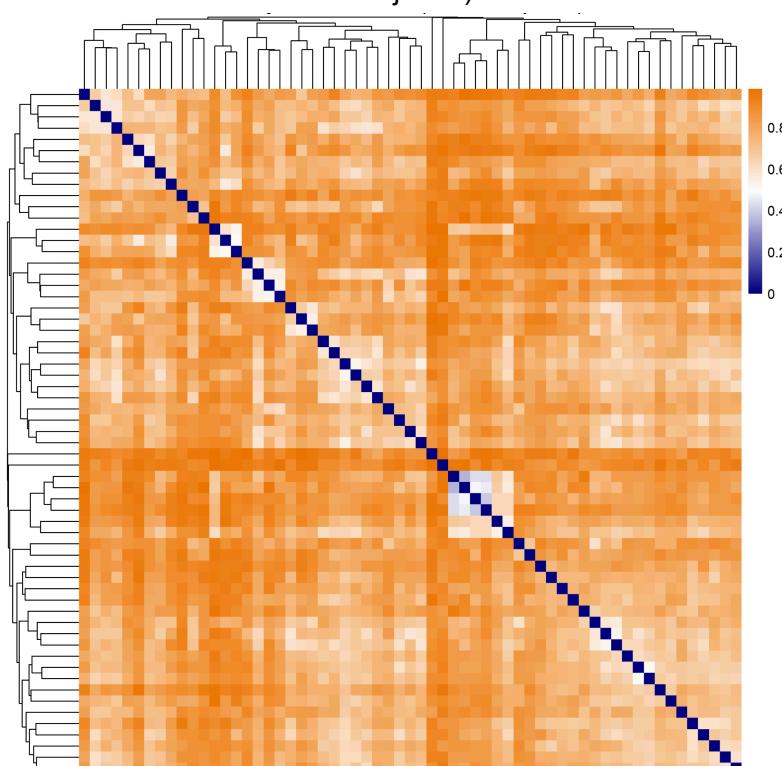
Tabela 3: Resultados das regressões lineares de Pearson (Shannon ~ covariável).

Covariável	β	Valor de p	R ²
eGFR	-7,59	0,45	0,010
Ureia	0,87	0,72	0,002
Creatinina	57,26	0,59	0,005

4.3. Caracterização específica da microbiota por beta-diversidade

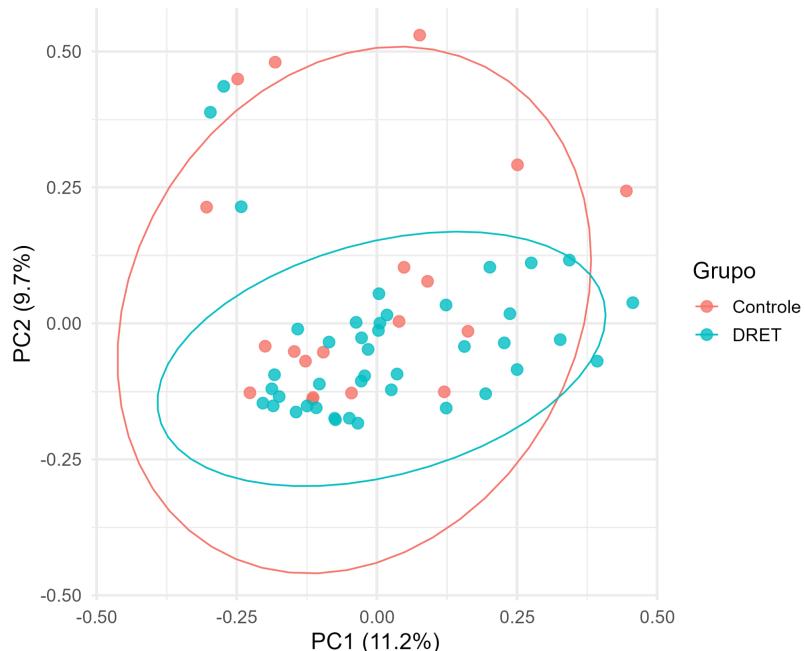
As análises de beta-diversidade também foram conduzidas a nível espécie (1.217 táxons bacterianos analisados). A Figura 2 mostra o heatmap da matriz de distâncias de Bray–Curtis. Nota-se, através do dendrograma superior, que existem grupos de amostras que se organizam predominantemente juntas, porém, não há uma separação absoluta entre os grupos controle e DRET, indicando sobreposição da composição de microbiota entre indivíduos saudáveis e com doença renal.

Figura 2: Heatmap da matriz de distâncias de Bray-Curtis. O heatmap demonstra a matriz de distâncias de Bray-Curtis em todos os táxons bacterianos (1.217). Cada célula do mapa representa a dissimilaridade entre um par de amostras, variando de 0 (quando comunidades quase idênticas, com tons de azul) a 1 (comunidades bastante distintas, com tons alaranjados).



A análise de PCoA (Figura 3), baseada na distância de Bray–Curtis, revelou padrões parciais de segregação entre os grupos estudados. O eixo PC1 explicou 11,2% da variação total, enquanto o eixo PC2 elucidou 9,7%. Cada ponto representa uma amostra, colorido conforme o estado clínico (salmão = controle; verde = DRET). Observa-se que as amostras do grupo DRET tendem a concentrar-se mais à direita de PC1, já as do grupo controle ocupam uma faixa ligeiramente mais ampla à esquerda e ao centro, sugerindo maior heterogeneidade neste último. Apesar da tendência de distinção observada, há notória sobreposição das elipses, indicando que a composição da microbiota não se diferencia de forma absoluta entre indivíduos saudáveis e pacientes com perda de função renal.

Figura 3: Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das espécies baseada nas distâncias de Bray–Curtis. As amostras são expostas no gráfico como primeira e segunda coordenadas, PC1 e PC2, com os valores da razão de variância de cada PC. As elipses indicam o IC de 95% para cada grupo.



4.3.1. O estado de saúde e covariáveis clínicas explicam a variância de beta-diversidade

Para verificar a homogeneidade de dispersão entre os grupos antes de aplicar a PERMANOVA, realizou-se o teste betadisper de dispersão multivariada sobre as distâncias de Bray–Curtis. A ANOVA aplicada aos valores de distância ao centróide não mostrou diferença significativa entre controle e DRET ($F = 0,24$; $p = 0,62$).

Portanto, as variâncias de dispersão são semelhantes nos dois conjuntos, atendendo ao pressuposto de homogeneidade de dispersão para a PERMANOVA.

Foi realizada uma PERMANOVA univariada aplicada à matriz de distâncias de Bray-Curtis com o intuito de testar se a composição da microbiota é influenciada pelas covariáveis. Conforme descrito abaixo na Tabela 4, apenas Gênero e Idade não se relacionam significativamente com a composição da microbiota ($p > 0,05$ para ambas). Já as covariáveis Grupo (controle ou DRET; $p = 0,002$), eGFR ($p = 0,002$), Ureia ($p = 0,003$) e Creatinina ($p = 0,009$) explicaram frações estatisticamente significativas da variabilidade na composição microbiana. O estado de saúde (controle ou DRET), a função renal (eGFR) e os níveis séricos de ureia foram os maiores preditores, explicando 3,35%, 3,39% e 3,36% da variância, respectivamente.

Tabela 4: Resultados de PERMANOVA univariada na matriz de distâncias de Bray-Curtis.

Covariável	R ²	pseudo-F	Valor de p
Grupo	0,0335	2,043	0,002
Gênero	0,0146	0,873	0,682
Idade	0,0199	1,199	0,175
eGFR	0,0339	2,073	0,002
Ureia	0,0336	2,052	0,003
Creatinina	0,0290	1,763	0,009

Embora a variabilidade na composição da microbiota de cada grupo estudado não seja completamente explicada pelas covariáveis avaliadas, evidencia-se que o estado clínico contribui ao menos em partes para diferenças na diversidade microbiana.

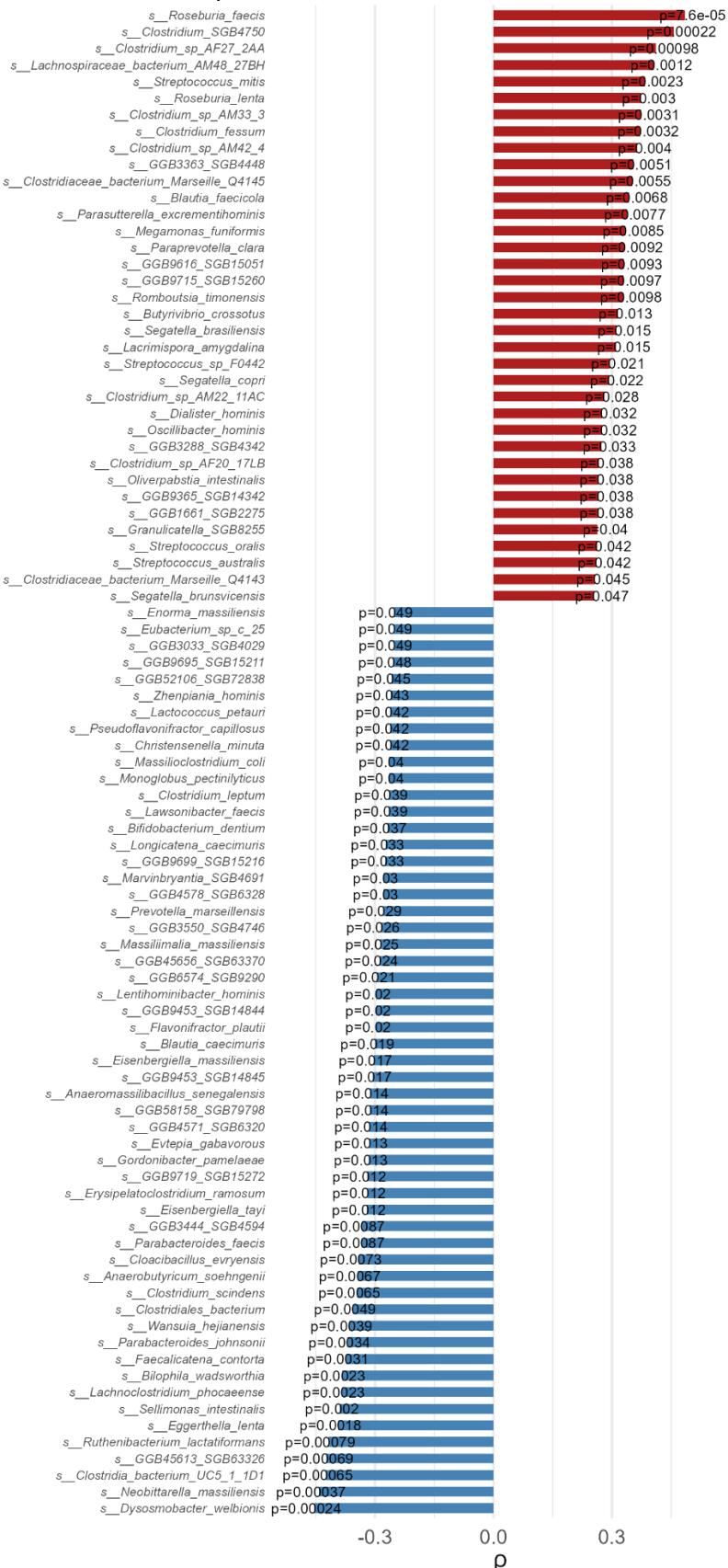
4.3.2. Existem bactérias associadas a perda de função renal

Para investigar mais profundamente a relação entre a abundância dos táxons e a função renal, calculou-se a correlação de Spearman entre a abundância relativa dos 1.217 táxons e os valores de eGFR. Foram identificadas 91 bactérias correlacionadas significativamente com a taxa de filtração glomerular (Figura 4), 36 espécies apresentaram correlação positiva (associadas a níveis mais elevados de

eGFR) e 55 mostraram correlação negativa (tendem a acumular em indivíduos com função renal prejudicada) (vide Anexo 1).

Entre as bactérias mais significativas das 55 espécies relacionadas a diminuição de eGFR estavam *s_Dysosmobaeter_welbionis* ($p = 0,0002$), *s_Neobittarella_massiliensis* ($0,0004$), *s_Clostridia_bacterium_UC5_1_1D1* ($p = 0,0006$) e *s_Ruthenibacterium_lactatiformans* ($p = 0,0008$). Além destas, ainda apareceram com menor poder estatístico (todas com $p = 0,002$) *s_Eggerthella_lenta*, *s_Sellimonas_intestinalis*, *s_Lachnoclostridium_phocaeense*, *s_Bilophila_wadsworthia*.

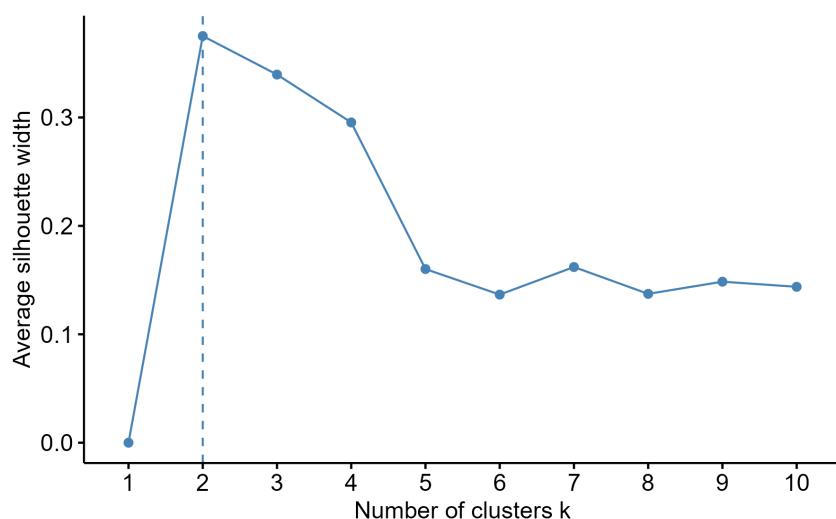
Figura 4: Táxons correlacionados significativamente com o eGFR. As espécies que tendem a aumentar quando a função renal está prejudicada (correlação negativa) estão indicadas em azul. As bactérias que se tornam mais presente em eGFR mais elevado estão em vermelho. Os valores de p estão descritos ao final das barras.



4.3.3. A composição da microbiota não distingue os estados de saúde

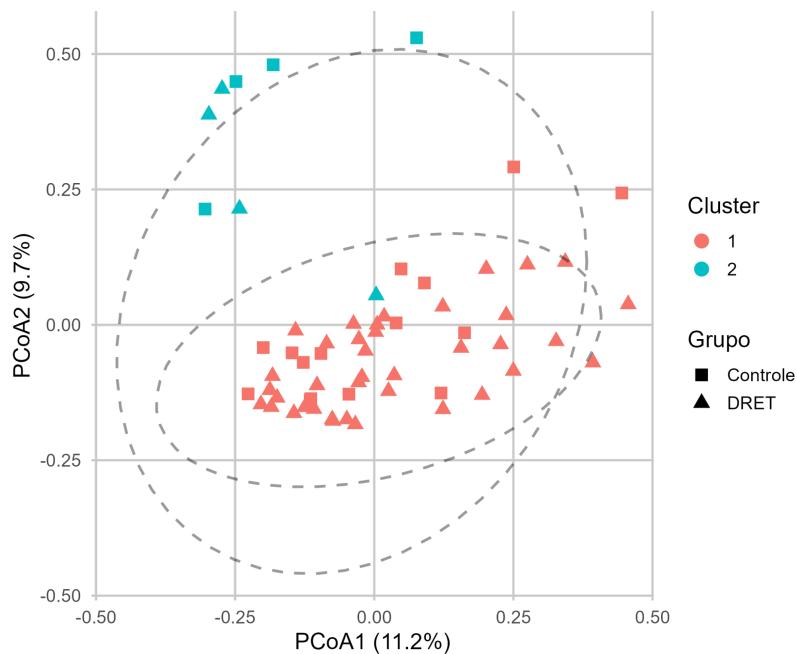
Para avaliar se a composição de microbiota é capaz de identificar o estado de saúde, realizou-se uma clusterização por PAM com 2 a 10 clusters, que apresentou o valor máximo de silhouette ($\sim 0,4$) quando $k = 2$ (Figura 5). Na separação de clusters, 15 pacientes do grupo controle e 38 pacientes com DRET foram alocados no Cluster 1, restando 4 participantes saudáveis e 4 indivíduos renais para o Cluster 2. Portanto, apenas o microbioma intestinal não é um fator discriminatório suficiente para identificar se um paciente apresenta DRET ou é saudável.

Figura 5: Gráfico de silhueta da clusterização por PAM. O ponto mais alto indica o número ideal de clusters para a separação das amostras.



A análise de PCoA realizada previamente (Figura 3), baseada na distância de Bray–Curtis, foi repetida com a adição da discriminação dos clusters. Apesar de terem sido formados dois subgrupos na clusterização, observa-se que há uma mistura expressiva de amostras entre os Cluster 1 e 2, indicando que, mesmo que ocorra uma tendência de separação, a variabilidade de composição da microbiota não permite uma distinção categórica entre os dois estados clínicos (saudável e não-saudável).

Figura 6: Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das espécies baseada nas distâncias de Bray–Curtis após a clusterização por PAM. As amostras são expostas no gráfico como primeira e segunda coordenadas, PCoA1 e PCoA2, com os valores da razão de variância de cada PCoA. As elipses indicam o IC de 95% para cada grupo. As amostras são coloridas conforme o cluster (salmão = Cluster 1 e turquesa = Cluster 2) e pontuadas de acordo com o grupo (quadrado = controle e triângulo = DRET).

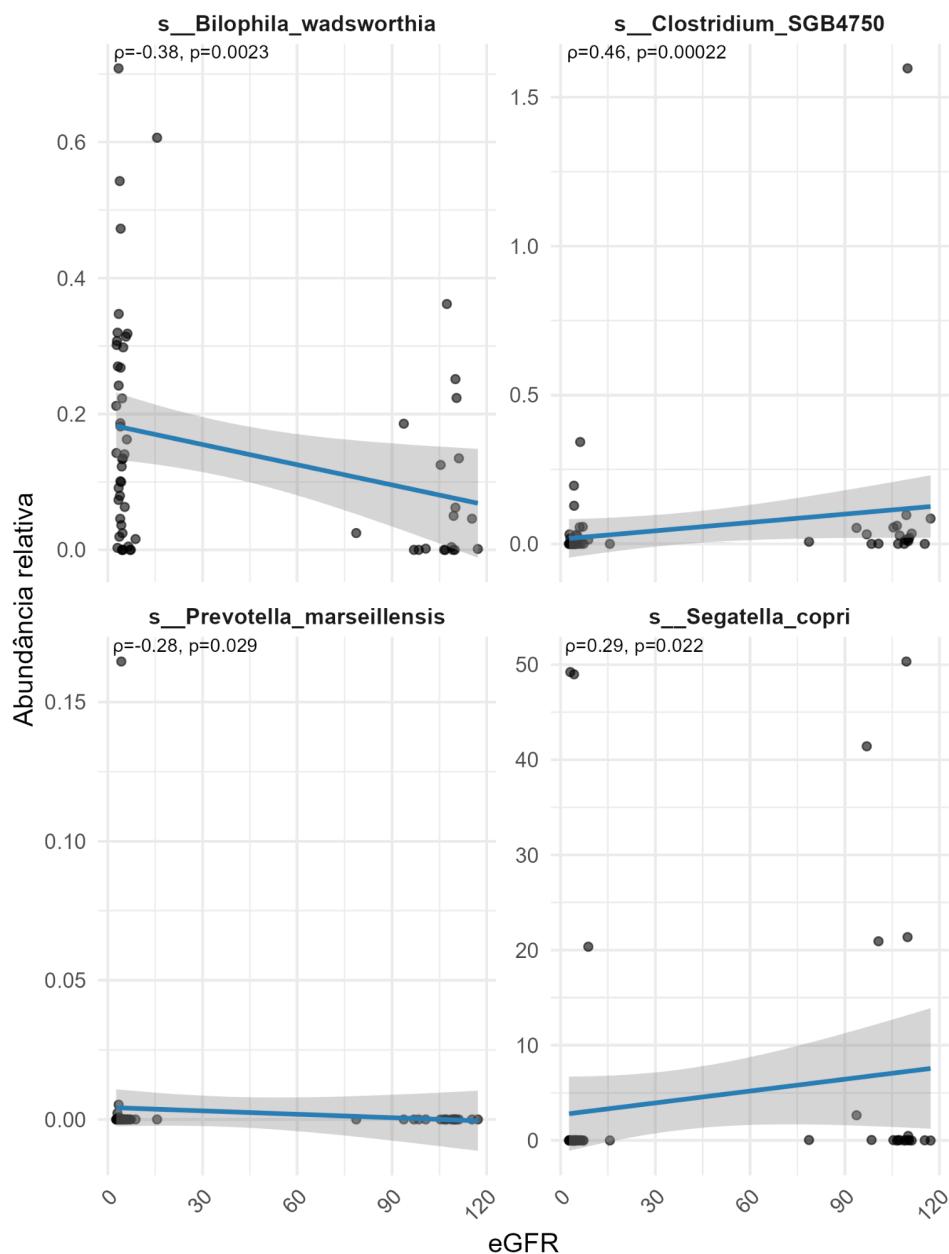


Para identificar táxons cuja abundância relativa difere entre os dois clusters formados, realizou-se a ANOVA univariada para cada um dos 1.217 táxons, identificando-se 146 espécies que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os Clusters 1 e 2 (Vide Anexo 2). Os efeitos mais robustos foram observados para *s_Segatella_copri* ($p = 5,73 \times 10^{-19}$), seguidos por *s_Paratractidigestivibacter_faecalis* ($p = 7,28 \times 10^{-5}$), *s_Slackia_isoflavoniconvertens* ($p = 1,38 \times 10^{-4}$) e *s_Mediterraneibacter_sp_NSJ_151* ($p = 9,08 \times 10^{-4}$). Outros táxons também se mostraram fortemente significativos, como *s_Segatella_hominis* e *s_Clostridium_SGB4750*, sugerindo que essas bactérias contribuem para a separação dos perfis de microbiota entre os clusters obtidos.

A Figura 7 apresenta a relação entre a abundância relativa de cada um dos 146 táxons identificados como significativos para a separação dos clusters e o eGFR. Nota-se que *s_Clostridium_SGB4750* e *s_Segatella_copri* exibem clara inclinação positiva, ou seja, mostram tendência de aumento de abundância à medida que eGFR eleva, embora para a segunda espécie observe-se uma dispersão um pouco maior.

Em contraste, *s__Bilophila_wadsworthia* e *s__Prevotella_marseillensis* apresentam declínio consistente com o aumento de eGFR, corroborando com a correlação negativa observada anteriormente. Esses resultados reforçam que determinadas bactérias acompanham diretamente a função renal, como mostrado previamente neste trabalho.

Figura 7: Gráfico facetado das bactérias que separam os clusters que apresentam correlação de Spearman significativa com eGFR. O gráfico com correlação de Spearman demonstra a estimativa de correlação linear entre as variáveis em questão (espécie bacteriana e eGFR). Cada ponto representa uma amostra, e a linha de tendência em cinza envolve o IC de 95% do ajuste linear com escala de abundância livre em cada painel.



4.4. Existe diferença de composição da microbiota intestinal entre os pacientes com DRET e indivíduos saudáveis

Foram identificadas, através de teste-T, 63 espécies cuja abundância difere estatisticamente ($p < 0,05$) entre os grupos controle e DRET (vide Anexo 3). Para a visualização gráfica dessas diferenças, foi gerado um heatmap (Figura 8) com as bactérias que apresentaram divergências de abundâncias entre o estado saudável e não saudável.

As amostras do grupo controle mostraram maior abundância das bactérias *Clostridium fessum*, *Roseburia faecis*, *Lachnospiraceae bacterium AM48_27BH*, *Clostridium sp AM22_11AC* e *Segatella brasiliensis*. Enquanto as amostras em DRET apresentam aumento de abundância em espécies como *Flavonifractor plautii*, *Eggerthella lenta*, *Clostridium spiriforme* e *Faecalicitena contorta*, sugerindo o enriquecimento de táxons potencialmente urêmicos em indivíduos com função renal prejudicada.

Figura 8: Heatmap das espécies com $p < 0,05$ na comparação entre os grupos (DRET vs. controle). As bactérias foram ordenadas pela magnitude da sua relevância estatística (o primeiro táxon é o de maior significância e o último é o que possui o maior valor de p). Cada célula do gráfico representa o escore-Z da abundância de cada espécie nas amostras. Os valores abaixo da média são identificados por tons de azul e os valores acima da média são indicados por tons avermelhados. Ainda foram adicionadas anotações de grupo (controle em verde e DRET em laranja).



A identificação conjunta de espécies tradicionalmente protetoras (produtoras de butirato, como a *Roseburia faecis*) e de espécies associadas a toxinas urêmicas reforça o papel funcional dessas alterações taxonômicas no agravamento da DRC.

5. Discussão

O estudo fonte (Wang *et al.*, 2020), cujos dados de sequenciamentos usados neste trabalho foram extraídos, constatou que o estágio terminal da DRC afetava amplamente a composição da microbiota intestinal. As espécies mais sobressalentes nos pacientes com DRET foram *Eggerthella lenta*, *Flavonifractor plautii*, *Alistipes finegoldii*, *Alistipes shahii*, *Ruminococcus spp* e *Fusobacterium spp*. No presente trabalho também foi identificada maior abundância de *Eggerthella lenta*, *Flavonifractor plautii* e *Ruminococcus spp* nos indivíduos com perda de função renal. Entretanto, não foram observadas alterações entre os grupos na abundância de *Alistipes finegoldii*, *Alistipes shahii* e *Fusobacterium spp*, apesar de ter sido apontada maior presença de uma espécie do gênero *Alistipes* (*Alistipes onderdonkii*) em pacientes com DRET (Figura 8).

Ainda corroborando com os resultados do estudo fonte, foram encontradas influências significativas das espécies *Eggerthella lenta* e *Flavonifractor plautii* sobre eGFR na análise de beta-diversidade, ambas com correlação negativa, isto é, quanto mais prejudicada a função renal, maior a abundância dessas duas bactérias (Anexo 1). Apesar dos achados de Wang e colaboradores (2020) ainda apontarem uma relação entre a perda de capacidade de filtração pelos rins e o aumento dos táxons *Alistipes finegoldii*, *Alistipes shahii* e *Fusobacterium spp*, na coorte reduzida usada neste trabalho não foi identificada significância estatística para essas espécies, embora a maioria das correlações também tenham sido negativas para essas bactérias (Anexo 1).

Wang *et al.* (2020) também mostrou que os táxons *Prevotella copri*, *Clostridium spp*, *Roseburia spp*, *Faecalibacterium prausnitzii* e *Eubacterium rectale* estavam reduzidos nos pacientes do grupo DRET em comparação aos participantes saudáveis. No presente trabalho, corroborando em partes com esses achados e de outros estudos (Wang *et al.*, 2023; Jiang *et al.*, 2017), foram identificadas 4 espécies do gênero *Clostridium spp* (*Clostridium fessum*, *Clostridium sp AF27_2AA*, *Clostridium sp AM42_4* e *Clostridium sp AM22_11AC*) e 1 espécie do gênero *Roseburia spp* (*Roseburia faecis*) com maior abundância no grupo controle (Figura 7).

Em consonância com esses achados, 7 espécies do gênero *Clostridium spp* (*Clostridium SGB4750*, *Clostridium sp AF27_2AA*, *Clostridium sp AM33_3*,

Clostridium fessum, *Clostridium sp AM42_4*, *Clostridium sp AM22_11AC* e *Clostridium sp AF20_17LB*) e 2 espécies do gênero *Roseburia spp* (*Roseburia faecis* e *Roseburia lenta*) apresentaram correlação positiva significativa com eGFR (maior abundância quando a função renal é preservada) na análise de beta-diversidade (Anexo 1). Já as bactérias *Faecalibacterium prausnitzii* e *Eubacterium rectale* não apresentaram relevância estatística na comparação entre os grupos e, ao contrário das conclusões do estudo fonte e de outras investigações (Jiang *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2023), as correlações para essas duas espécies foram negativas (Anexo 1), sugerindo que na coorte reduzida usada neste trabalho, esses táxons podem ter abundância semelhante entre participantes saudáveis e pacientes com DRET.

Nota-se que houveram diferenças nas caracterizações taxonômicas dos 2 estudos mesmo que os sequenciamentos metagenômicos utilizados para ambos sejam idênticos. Esta divergência pode estar relacionada ao modelamento da coorte reduzida do presente trabalho, que incluiu apenas um subconjunto de participantes (n de DRET = 42 e n de controle = 19) com uma faixa etária mais restrita (≥ 41 anos e ≤ 50 anos), enquanto a investigação original avaliou 223 pacientes com DRET e 69 controles saudáveis, com idades entre 21 e 73 anos. Portanto, Wang e colaboradores (2020) identificaram mais táxons bacterianos por compararem amostras de um número maior de indivíduos e, consequentemente, obtiveram um espectro taxonômico mais diverso. Além disso, as bibliotecas de genes aplicadas em cada estudo podem ter influenciado diretamente as espécies detectadas.

Outro estudo (Wang *et al.*, 2023), de design transversal, conduzido em Shanghai, China, com 68 pacientes portadores de DRC em diferentes estágios (leve, moderada e terminal) e 20 pacientes controles saudáveis, observou valores de alfa-diversidade reduzidos para os participantes com DRET (n = 26 e idade média = $59,8 \text{ anos} \pm 10,6$) pelos índices Chao1 (578,4) e Shannon (2,776) em comparação ao grupo controle. Já a beta-diversidade, calculada através das distâncias de Bray-Curtis, apresentou diferenças significativas entre as microbiotas intestinais dos 4 grupos estudados em uma análise de PCoA.

Em contrapartida a essa investigação, mas em concordância com Jiang e colaboradores (2017), o presente trabalho não identificou variação significativa de alfa-diversidade entre os grupos DRET e controle pelo índice de Shannon ($p = 0,99$) (Tabela 2; Figura 1), além de não ter sido verificada uma separação clara entre os grupos em PCoA baseada nas distâncias de Bray-Curtis (Figura 3). Wang e

colaboradores (2023) utilizaram uma coorte mais ampla em relação a esse estudo em uma faixa de idade distinta e, tais diferenças no tamanho amostral e na amplitude etária, podem ter impactado os índices de diversidade microbiana, podendo explicar as discrepâncias encontradas entre as duas investigações para as métricas de alfa e beta-diversidades.

Em relação às abundâncias taxonômicas, Wang *et al.* (2023) realizou uma avaliação de enriquecimento e depleção de táxons conforme o avanço de DRC. Foi observado que, à medida que a perda de função renal se agrava ao estágio terminal da doença, a espécie *Turicibacter sanguinis* se torna mais abundante. Enquanto as bactérias *Streptococcus mutans*, *Bifidobacterium adolescentis* e *Lactobacillus crispatus* estavam reduzidas. No presente trabalho, não foi observada significância estatística na relação entre os táxons enriquecidos e depletados identificados por Wang e colaboradores (2023) e o eGFR (Anexo 1). Porém, 1 espécie do gênero *Streptococcus* (*Streptococcus mitis*) apresentou maior abundância nos pacientes saudáveis. Ainda em contraste a Wang *et al.* (2023), 2 bactérias do gênero *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium pseudocatenulatum*) foram mais presentes em participantes do grupo DRET (Figura 8).

É importante salientar que os estudos mencionados ao longo da discussão também conduziram análises voltadas para a metabolômica, pois, são os metabólitos gerados pelos táxons enriquecidos nos pacientes portadores de DRC em diferentes estágios que possuem relação direta com o agravo da doença. Em concordância ao observado por essas investigações, espécies produtoras de toxinas urêmicas séricas (*Eggerthella lenta*, *Flavonifractor plautii*, *Eisenbergiella spp* e *Blautia caecimuris*) apresentaram correlação significativa com a piora de eGFR na análise de beta-diversidade (Anexo 1), além de terem sido mais presentes em pacientes com DRET (Figura 8). Ao passo que, bactérias produtoras de ácidos biliares e ácidos graxos de cadeia curta (butiratos), a exemplo *Clostridium spp* e *Roseburia spp*, foram correlacionadas significativamente com a função renal preservada (Anexo 1) e se mostraram mais abundantes nos participantes saudáveis (Figura 8).

Deve-se ainda pontuar que o presente estudo apresenta limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. O tamanho reduzido da coorte (n de DRET = 42 e n de controle = 19) limita o poder estatístico e a representatividade, especialmente para subgrupos de táxons de baixa abundância.

A análise exclusiva de correlações entre abundância de táxons e variáveis clínicas impedem atribuir relações causais e podem estar sujeitos a vieses de confusão não ajustados. Além disso, não foram incorporados dados metabolômicos ou de funcionalidade microbiana, restringindo a compreensão dos mecanismos subjacentes à disbiose observada. Diante disso, futuras investigações podem envolver coortes maiores e abordagens integradas de metagenômica e metabolômica para validar e estender estes achados, os quais (mesmo que limitados) já corroboram com outros trabalhos publicados.

6. Conclusão

Em conclusão, o presente trabalho confirmou as observações de Wang *et al.* (2020) ao também demonstrar que o estágio terminal da DRC está associado a alterações específicas na composição da microbiota intestinal. Foram identificadas correlações negativas significativas entre a abundância de espécies produtoras de toxinas urêmicas e o eGFR, reforçando o papel de táxons como potenciais biomarcadores de disfunção renal. Por outro lado, associações positivas significantes determinadas entre bactérias produtoras de butiratos e a função renal preservada, ressaltam o efeito protetor exercido por essa secreção de ácidos graxos de cadeia curta.

Por fim, reconhece-se que o número limitado de participantes e a ausência de análises metabolômicas restrinjam as inferências sobre mecanismos causais. Estudos futuros com amostras maiores e abordagens multi-ômicas serão essenciais para validar estes achados, elucidar vias metabólicas e explorar intervenções direcionadas à modulação da microbiota em pacientes com DRC em diferentes estágios.

7. Aspectos Éticos

O presente trabalho foi desenvolvido com dados anonimizados de estudos previamente publicados que foram coletados após o consentimento informado dos participantes e que estejam depositados em repositórios públicos. Os dados foram acessados respeitando a licença de uso de cada repositório e utilizados de modo a garantir que os resultados obtidos sejam integralmente reproduzíveis.

Assim, considerando a origem secundária dos dados e o livre acesso permitido a esses, não se fez necessária a aprovação do presente trabalho pelo Comitê de Ética.

8. Referências

- AL KHODOR, S.; SHATAT, I. F. Gut microbiome and kidney disease: a bidirectional relationship. **Pediatric Nephrology**, v. 32, n. 6, p. 921-931, 2017. DOI: 10.1007/s00467-016-3392-7.
- AMINI KHIABANI, S.; ASGHARZADEH, M.; SAMADI KAFIL, H. Chronic kidney disease and gut microbiota. **Heliyon**, v. 9, n. 8, e18991, 2023. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e18991.
- ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, n. 1, p. 32-46, 2001.
- ANDERSON, M. J.; WALSH, D. C. E. PERMANOVA, ANOSIM and the Mantel test in ecological community structure analysis: what do they tell us? **Ecology**, v. 94, n. 1, p. 220–227, 2013.
- BIOBAKERY. MetaPhlAn [software]. Versão 4.1.1, 23 mai. 2024. [S.I.]: GitHub, Inc. Disponível em: <https://github.com/biobakery/MetaPhlAn>. Acesso em: 12 abr. 2025.
- BRAY, J. R.; CURTIS, J. T. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. **Ecological Monographs**, v. 27, n. 4, p. 325–349, 1957.
- CD GENOMICS. **Introduce to 16S rRNA and 16S rRNA Sequencing**. CD Genomics Blog, 13 abr. 2024. Disponível em: <https://www.cd-genomics.com/blog/introduce-to-16s-rRNA-and-16s-rRNA-sequencing/>. Acesso em: 12 abr. 2025.
- CHAO, A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 11, n. 4, p. 265–270, 1984.
- CIGARRAN GULDRIS, S.; GONZÁLEZ PARRA, E.; CASES AMENÓS, A. Gut microbiota in chronic kidney disease. **Nefrologia**, v. 37, n. 1, p. 9-19, 2017. DOI: 10.1016/j.nefro.2016.05.008.
- DUARTE, A. B.; SANTOS, S. N.; ARAÚJO, M. S. et al. Perfil epidemiológico da insuficiência renal no Brasil de 2012 a 2022. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 10, e31121043360, 2023.

JIANG, S.; XIE, S.; LV, D.; *et al.* Alteration of the gut microbiota in Chinese population with chronic kidney disease. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2870, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-02989-2.

LEI, J.; XIE, Y.; SHENG, J.; SONG, J. Intestinal microbiota dysbiosis in acute kidney injury: novel insights into mechanisms and promising therapeutic strategies. **Renal Failure**, v. 44, n. 1, p. 571-580, 2022. DOI: 10.1080/0886022X.2022.2056054.

LI, N.; WANG, Y.; WEI, P.; *et al.* Causal Effects of Specific Gut Microbiota on Chronic Kidney Diseases and Renal Function-A Two-Sample Mendelian Randomization Study. **Nutrients**, v. 15, n. 2, p. 360, 2023. DOI: 10.3390/nu15020360.

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: a phylogenetic method for comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8228–8235, 2005.

MAFRA, D.; KEMP, J. A.; BORGES, N. A.; *et al.* Gut Microbiota Interventions to Retain Residual Kidney Function. **Toxins (Basel)**, v. 15, n. 8, p. 499, 2023. DOI: 10.3390/toxins15080499.

MCDONALD, D. et al. American Gut: an open platform for citizen science microbiome research. **mSystems**, v. 3, n. 3, e00031-18, 2018.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, e61217, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Estratégias para Atenuar a Progressão da Doença Renal Crônica**. 2023. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2023/20230418_relatorio_pcdt_estrategias_para_atenuar_a_progressao_da_drc_cp_11.pdf. Acesso em: 18 ago. 2024.

NALLU, A.; SHARMA, S.; RAMEZANI, A.; *et al.* Gut microbiome in chronic kidney disease: challenges and opportunities. **Translational Research**, v. 179, p. 24-37, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.04.007>.

POSIT PBC. Download RStudio Desktop. [s.d.]. Disponível em: <https://posit.co/download/rstudio-desktop/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

QIN, J.; LI, R.; RAES, J.; et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **Nature**, v. 464, n. 7285, p. 59-65, 2010. DOI: 10.1038/nature08821.

QUINCE, C.; WALKER, A.; SIMPSON, J. et al. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. **Nature Biotechnology**, v. 35, p. 833–844, 2017. DOI: 10.1038/nbt.3935.

RYSZ, J.; FRANCZYK, B.; ŁAWIŃSKI, J.; et al. The Impact of CKD on Uremic Toxins and Gut Microbiota. **Toxins (Basel)**, v. 13, n. 4, p. 252, 2021. DOI: 10.3390/toxins13040252.

SALVADORI, M.; TSALOUCHOS, A. Microbiota, renal disease and renal transplantation. **World Journal of Transplantation**, v. 11, n. 3, p. 16-36, 2021. DOI: 10.5500/wjt.v11.i3.16.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The Mathematical Theory of Communication**. Urbana: University of Illinois Press, 1949.

SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, p. 688, 1949.

STANFORD, J.; CHARLTON, K.; STEFOSKA-NEEDHAM, A.; et al. The gut microbiota profile of adults with kidney disease and kidney stones: a systematic review of the literature. **BMC Nephrology**, v. 21, n. 1, p. 215, 2020. DOI: 10.1186/s12882-020-01805-w.

SWARTE, J. C.; LI, Y.; HU, S. et al. Gut microbiome dysbiosis is associated with increased mortality after solid organ transplantation. **Science Translational Medicine**, v. 14, eabn7566, 2022. DOI: 10.1126/scitranslmed.abn7566.

TANG, W.H.W.; WANG, Z.N.; KENNEDY, D.J.; et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. **Circulation Research**, v. 116, p. 448–455, 2015. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305360.

THOMPSON, L. R. et al. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. **Nature**, v. 551, n. 7681, p. 457–463, 2017.

TITAN, Silvia. **Princípios básicos de nefrologia**. Porto Alegre: Grupo A, 2013. E-book. ISBN 9788565852395.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **HPC – Universidade de São Paulo**. Disponível em: <https://hpc.usp.br/>. Acesso em: 12 abr. 2025.

VAIDYA, S. R.; AEDDULA, N. R. **Chronic Kidney Disease**. *StatPearls*, 2024. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/#:~:text=Chronic%20kidney%20disease%20\(CKD\)%20is,for%203%20months%20or%20more](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/#:~:text=Chronic%20kidney%20disease%20(CKD)%20is,for%203%20months%20or%20more). Acesso em: 17 ago. 2024.

VAZIRI, N.D.; WONG, J.; PAHL, M.; et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. **Kidney International**, v. 83, n. 2, p. 308-15, 2013. DOI: 10.1038/ki.2012.345.

WANG, H.; AISIMA, A.; SONG, Y.; et al. Perturbed gut microbiome and fecal and serum metabolomes are associated with chronic kidney disease severity. **Microbiome**, v. 11, n. 1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01443-4>

WANG, Xifan; YANG, Songtao; LI, Shenghui; et al. Aberrant gut microbiota alters host metabolome and impacts renal failure in humans and rodents. **Gut**, v. 69, n. 12, p. 2131–2142, 2020. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319766.

WHITTAKER, R. H. Evolution and measurement of species diversity. **TAXON**, v. 21, n. 2/3, p. 213–251, 197

WONG, J.; PICENO, Y.M.; DESANTIS, T.Z.; et al. Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal microbiota in ESRD. **American Journal of Nephrology**, v. 39, n. 3, p. 230-237, 2014. DOI: 10.1159/000360010.

WU, I. W.; HSU, K. H.; LEE, C. C.; et al. p-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 26, p. 938–947, 2011. DOI: 10.1093/ndt/gfq580.

XIA, Y.; SUN, J. Basic data processing in QIIME 2. In: **Bioinformatic and statistical analysis of microbiome data.** Cham: Springer, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-031-21391-5_3. Acesso em: 27 ago. 2024.

YANG, T.; RICHARDS, E. M.; PEPINE, C. J.; *et al.* The gut microbiota and the brain–gut–kidney axis in hypertension and chronic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, p. 442–456, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s>.

ZHANG, P.; WANG, X.; LI, S.; *et al.* Metagenome-wide analysis uncovers gut microbial signatures and implicates taxon-specific functions in end-stage renal disease. **Genome Biology**, v. 24, n. 1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-023-03056-y>.

Victoria C. Sousa

Data: 21/05/2025

Aluna: Victória Cavalcante Sousa

Christian Hoffmann

Data: 21/05/2025

Prof. Dr. Christian Hoffmann

9. Anexos

Anexo 1: Bactérias que apresentam correlações negativas (tendem a acumular em indivíduos com perda de função renal) e positivas (mais presentes em taxas de filtração elevadas) significativas com eGFR.

Táxon	Coef. Spearman	Valor de p
s__Dysosmoba c ter_welbionis	-0,4536	0,0002
s__Neobittarella_massiliensis	-0,4415	0,0004
s__Clostridia_bacterium_UC5_1_1D1	-0,4246	0,0006
s__GGB45613_SGB63326	-0,4227	0,0007
s__Ruthenibacterium_lactatiformans	-0,4183	0,0008
s__Eggerthella_lenta	-0,3925	0,0018
s__Sellimonas_intestinalis	-0,3889	0,0020
s__Lachnoclostridium_phocaeense	-0,3835	0,0023
s__Bilophila_wadsworthia	-0,3825	0,0023
s__Faecalicatena_contorta	-0,3731	0,0031
s__Parabacteroides_johnsonii	-0,3697	0,0034
s__Wansuia_hejianensis	-0,3646	0,0039
s__Clostridiales_bacterium	-0,3554	0,0049
s__Clostridium_scindens	-0,3448	0,0065
s__Anaerobutyricum_soehngenii	-0,3437	0,0067
s__Cloacibacillus_evryensis	-0,3403	0,0073
s__Parabacteroides_faecis	-0,3332	0,0087
s__GGB3444_SGB4594	-0,3331	0,0087
s__Eisenbergiella_tayi	-0,3206	0,0118
s__Erysipelatoclostridium_ramosum	-0,3200	0,0119
s__GGB9719_SGB15272	-0,3192	0,0121
s__Gordonibacter_pamelaeae	-0,3154	0,0133
s__Evtepiab Gabavorous	-0,3149	0,0134
s__GGB4571_SGB6320	-0,3146	0,0135
s__GGB58158_SGB79798	-0,3127	0,0142

s__Anaeromassilibacillus_senegalensis	-0,3121	0,0143
s__GGB9453_SGB14845	-0,3054	0,0167
s__Eisenbergiella_massiliensis	-0,3036	0,0174
s__Blautia_caecimuris	-0,2991	0,0192
s__Flavonifractor_plautii	-0,2972	0,0200
s__GGB9453_SGB14844	-0,2971	0,0201
s__Lentihominibacter_hominis	-0,2967	0,0202
s__GGB6574_SGB9290	-0,2944	0,0213
s__GGB45656_SGB63370	-0,2882	0,0243
s__Massiliimalia_massiliensis	-0,2869	0,0250
s__GGB3550_SGB4746	-0,2846	0,0262
s__Prevotella_marseillensis	-0,2794	0,0292
s__GGB4578_SGB6328	-0,2780	0,0301
s__Marvinbryantia_SGB4691	-0,2779	0,0301
s__GGB9699_SGB15216	-0,2734	0,0330
s__Longicatena_caecimuris	-0,2729	0,0333
s__Bifidobacterium_dentium	-0,2672	0,0373
s__Lawsonibacter_faecis	-0,2652	0,0388
s__Clostridium_leptum	-0,2645	0,0394
s__Monoglobus_pectinilyticus	-0,2636	0,0401
s__Massilioclostridium_coli	-0,2636	0,0401
s__Christensenella_minuta	-0,2614	0,0419
s__Pseudoflavonifractor_capillosus	-0,2614	0,0419
s__Lactococcus_petauri	-0,2609	0,0423
s__Zhenpiania_hominis	-0,2603	0,0428
s__GGB52106_SGB72838	-0,2574	0,0452
s__GGB9695_SGB15211	-0,2541	0,0481
s__GGB3033_SGB4029	-0,2531	0,0491
s__Eubacterium_sp_c_25	-0,2530	0,0492

s__Enorma_massiliensis	-0,2527	0,0495
s__Roseburia_faecis	0,4844	7,63×10 ⁻⁵
s__Clostridium_SGB4750	0,4561	0,0002
s__Clostridium_sp_AF27_2AA	0,4118	0,0010
s__Lachnospiraceae_bacterium_AM48_27BH	0,4056	0,0012
s__Streptococcus_mitis	0,3831	0,0023
s__Roseburia_lenta	0,3738	0,0030
s__Clostridium_sp_AM33_3	0,3732	0,0031
s__Clostridium_fessum	0,3720	0,0032
s__Clostridium_sp_AM42_4	0,3637	0,0040
s__GGB3363_SGB4448	0,3539	0,0051
s__Clostridiaceae_bacterium_Marseille_Q4145	0,3514	0,0055
s__Blautia_faecicola	0,3431	0,0068
s__Parasutterella_exrementihominis	0,3383	0,0077
s__Megamonas_funiformis	0,3342	0,0085
s__Paraprevotella_clara	0,3311	0,0092
s__GGB9616_SGB15051	0,3303	0,0093
s__GGB9715_SGB15260	0,3288	0,0097
s__Romboutsia_timonensis	0,3281	0,0098
s__Butyrvibrio_crossotus	0,3147	0,0135
s__Segatella_brasiliensis	0,3115	0,0146
s__Lacrimispora_amygdalina	0,3100	0,0150
s__Streptococcus_sp_F0442	0,2957	0,0207
s__Segatella_copri	0,2928	0,0220
s__Clostridium_sp_AM22_11AC	0,2807	0,0284
s__Dialister_hominis	0,2756	0,0316
s__Oscillibacter_hominis	0,2753	0,0318
s__GGB3288_SGB4342	0,2732	0,0331
s__Clostridium_sp_AF20_17LB	0,2670	0,0375

s__Oliverpabstia_intestinalis	0,2666	0,0378
s__GGB1661_SGB2275	0,2665	0,0379
s__GGB9365_SGB14342	0,2665	0,0379
s__Granulicatella_SGB8255	0,2640	0,0398
s__Streptococcus_oralis	0,2618	0,0415
s__Streptococcus_australis	0,2609	0,0423
s__Clostridiaceae_bacterium_Marseille_Q4143	0,2578	0,0449
s__Segatella_brunsvicensis	0,2552	0,0471

Anexo 2: Bactérias contribuintes para a separação das amostras em clusters gerados por PAM.

Táxon	Valor de p
s__Segatella_copri	$5,73 \times 10^{-19}$
s__Paratractidigestivibacter_faecalis	$7,28 \times 10^{-5}$
s__Slackia_isoflavoniconvertens	$1,38 \times 10^{-4}$
s__GGB9730_SGB15290	$1,48 \times 10^{-4}$
s__Mediterraneibacter_sp_NSJ_151	$9,08 \times 10^{-4}$
s__GGB9774_SGB15394	0,0047
s__Segatella_hominis	0,0048
s__Clostridium_SGB4750	0,0057
s__GGB4687_SGB6484	0,0064
s__Massilimicrobiota_timonensis	0,0068
s__GGB49418_SGB69331	0,0074
s__GGB3637_SGB4930	0,0077
s__Clostridium_innocuum	0,0081
s__GGB9618_SGB15065	0,0082
s__Prevotella_marseillensis	0,0083
s__GGB9637_SGB15111	0,0089

s__GGB2977_SGB3959	0,0089
s__Segatella_sanihominis	0,0089
s__GGB1631_SGB2239	0,0089
s__GGB9370_SGB14351	0,0089
s__GGB9606_SGB15038	0,0089
s__Turicibacter_SGB106351	0,0089
s__GGB9297_SGB14255	0,0089
s__GGB9817_SGB57321	0,0089
s__GGB9784_SGB15407	0,0089
s__GGB1109_SGB1423	0,0089
s__GGB9764_SGB15381	0,0089
s__GGB9773_SGB15393	0,0089
s__GGB9788_SGB15411	0,0089
s__Candidatus_Segatella_intestinihominis	0,0089
s__Bacteroides_sp_AF39_11AC	0,0089
s__GGB6020_SGB8653	0,0089
s__Lactococcus_carnosus	0,0089
s__GGB9079_SGB14003	0,0089
s__Ellagibacter_isourolithinifaciens	0,0089
s__GGB9060_SGB13977	0,0089
s__Lactococcus_paracarnosus	0,0089
s__Anaerovibrio_lipolyticus	0,0089
s__Qingrenia_yutianensis	0,0089
s__Prevotella_SGB1671	0,0089
s__Collinsella_bouchesdurhonensis	0,0089
s__GGB1158_SGB1488	0,0089
s__GGB87334_SGB6273	0,0089

s__Lactobacillus_iners	0,0089
s__GGB4487_SGB6184	0,0089
s__Culturomica_massiliensis	0,0089
s__Mitsuokella_multacida	0,0089
s__Fannyhessea_vaginae	0,0089
s__GGB3051_SGB4051	0,0089
s__GGB4257_SGB5789	0,0089
s__GGB9275_SGB14227	0,0089
s__Bifidobacterium_pullorum	0,0089
s__Blautia_sp_An46	0,0089
s__Dysgomononas_capnocytophagooides	0,0089
s__GGB1248_SGB1669	0,0089
s__GGB18456_SGB4146	0,0089
s__GGB45600_SGB63312	0,0089
s__GGB4689_SGB6487	0,0089
s__GGB6012_SGB8640	0,0089
s__Klebsiella_oxytoca	0,0089
s__Megasphaera_elsdenii	0,0089
s__Prevotellamassilia_timonensis	0,0089
s__Dysgomononas_gadei	0,0089
s__Methanospaera_stadtmanae	0,0089
s__Candidatus_Nanosynbacter_sp_HMT_352	0,0089
s__Gemmiger_sp_An50	0,0089
s__GGB12695_SGB19692	0,0089
s__Clostridium_jeddahense	0,0089
s__GGB1239_SGB1657	0,0089
s__GGB3185_SGB4208	0,0089

s__GGB3343_SGB4423	0,0089
s__GGB34228_SGB53814	0,0089
s__GGB6128_SGB8774	0,0089
s__Prevotella_SGB1675	0,0089
s__GGB1458_SGB2021	0,0089
s__Dialister_SGB5817	0,0089
s__GGB9420_SGB14786	0,0089
s__GGB3351_SGB4434	0,0089
s__GGB9786_SGB63164	0,0089
s__Catenibacterium_mitsuokai	0,0089
s__GGB52283_SGB73075	0,0089
s__GGB4581_SGB6331	0,0089
s__GGB9634_SGB15101	0,0089
s__Mitsuokella_jalaludinii	0,0089
s__GGB1617_SGB2214	0,0089
s__GGB9076_SGB13998	0,0089
s__GGB2658_SGB3579	0,0089
s__Dialister_succinatiphilus	0,0089
s__GGB4884_SGB6823	0,0089
s__GGB9088_SGB14017	0,0089
s__Christensenella_intestinihominis	0,0089
s__GGB1123_SGB1437	0,0089
s__GGB4266_SGB5809	0,0089
s__Mogibacterium_kristiansenii	0,0089
s__Prevotella_dentalis	0,0089
s__Prevotella_pectinovora	0,0089
s__GGB1627_SGB2227	0,0089

s__Enterococcus_faecalis	0,0089
s__Enterococcus_faecium	0,0089
s__Segatella_sinica	0,0089
s__GGB9452_SGB14843	0,0089
s__Schaalia_SGB17157	0,0089
s__Oscillospiraceae_unclassified_SGB15256	0,0090
s__Lachnoclostridium_sp_An138	0,0090
s__Paraeggerthella_hongkongensis	0,0090
s__GGB2983_SGB3965	0,0091
s__Clostridium_disporicum	0,0091
s__Fournierella_massiliensis	0,0095
s__GGB9642_SGB15119	0,0095
s__GGB9634_SGB15097	0,0096
s__Butyricoccus_SGB14985	0,0100
s__GGB3593_SGB4817	0,0103
s__GGB9737_SGB15309	0,0103
s__Bilophila_wadsworthia	0,0105
s__Leuconostoc_holzapfelii	0,0107
s__Clostridium_sp_AM29_11AC	0,0108
s__GGB9697_SGB15213	0,0111
s__GGB34900_SGB14891	0,0113
s__Catenibacterium_tridentinum	0,0114
s__GGB33469_SGB15237	0,0119
s__Rothia_mucilaginosa	0,0120
s__Butyricoccus_SGB14990	0,0131
s__GGB3609_SGB4877	0,0133
s__Streptococcus_infantis	0,0144

s__GGB58067_SGB79698	0,0147
s__GGB53380_SGB74412	0,0152
s__GGB3321_SGB4395	0,0164
s__Veillonella_atypica	0,0173
s__Gemella_haemolysans	0,0181
s__GGB3363_SGB4447	0,0200
s__Abiotrophia_sp_HMSC24B09	0,0202
s__Eubacteriaceae_bacterium_Marseille_Q4139	0,0204
s__Actinomyces_SGB17132	0,0206
s__Phascolarctobacterium_faecium	0,0208
s__Phascolarctobacterium_succinatutens	0,0249
s__GGB3730_SGB5060	0,0257
s__GGB1627_SGB2230	0,0258
s__GGB3429_SGB71704	0,0280
s__Bacteroides_bouchesdurhonensis	0,0302
s__GGB6649_SGB9391	0,0313
s__Methanobrevibacter_smithii	0,0328
s__Gardnerella_vaginalis	0,0360
s__Bacteroides_uniformis	0,0417
s__GGB2958_SGB3940	0,0441
s__GGB9690_SGB15196	0,0457
s__Anaerotignum_lactatifermentans	0,0475

Anexo 3: Bactérias com diferença de abundância significativa entre os grupos (controle vs. DRET).

Táxon	Valor de p
s__Flavonifractor_plautii	0,0007
s__Clostridium_fessum	0,0009

s__Eggerthella_lenta	0,0019
s__Blautia_wexlerae	0,0019
s__Ruthenibacterium_lactatiformans	0,0026
s__GGB3109_SGB4121	0,0029
s__Dysosmobacter_welbionis	0,0042
s__Lachnospiraceae_bacterium_AM48_27BH	0,0044
s__GGB45613_SGB63326	0,0052
s__Enterocloster_hominis	0,0052
s__Roseburia_faecis	0,0061
s__Bilophila_wadsworthia	0,0062
s__Evtepiababavorous	0,0063
s__Clostridium_spiroforme	0,0077
s__Clostridia_bacterium_UC5_1_1D1	0,0086
s__Erysipelatoclostridium_ramosum	0,0100
s__GGB58158_SGB79798	0,0101
s__Sellimonas_intestinalis	0,0106
s__Clostridium_sp_AF27_2AA	0,0117
s__Neobittarella_massiliensis	0,0120
s__Clostridiales_bacterium	0,0124
s__Vescimonas_coprocola	0,0125
s__Ruminococcus_sp_AF13_28	0,0145
s__GGB9719_SGB15272	0,0146
s__Ruminococcus_bromii	0,0149
s__Faecalicatena_contorta	0,0155
s__GGB3005_SGB3996	0,0165
s__GGB9616_SGB15052	0,0174
s__Coprococcus_catus	0,0186

s__Mediterraneibacter_glycyrrhizinilyticus	0,0189
s__Enterocloster_lavalensis	0,0194
s__Paraprevotella_clara	0,0204
s__Blautia_hansenii	0,0208
s__Fusicatenibacter_saccharivorans	0,0210
s__Clostridium_sp_AM42_4	0,0211
s__GGB9760_SGB15373	0,0215
s__Anaerostipes_hadru	0,0220
s__Clostridium_sp_AM22_11AC	0,0238
s__Dorea_formicigenerans	0,0249
s__Clostridium_symbiosum	0,0258
s__Clostridium_leptum	0,0280
s__Clostridium_scindens	0,0294
s__Bacteroides_nordii	0,0305
s__Lachnospira_pectinoschiza	0,0314
s__GGB3109_SGB4119	0,0315
s__Wansuia_hejianensis	0,0324
s__Lachnospiraceae_bacterium_CLA_AA_H244	0,0327
s__Bifidobacterium_longum	0,0330
s__Eisenbergiella_tayi	0,0338
s__Parabacteroides_johnsonii	0,0341
s__Barnesiella_intestinihominis	0,0354
s__Alistipes_onderdonkii	0,0373
s__Bifidobacterium_pseudocatenulatum	0,0380
s__Odoribacter_splanchnicus	0,0392
s__Pseudoruminococcus_massiliensis	0,0398
s__GGB3444_SGB4594	0,0405

s__Dielma_fastidiosa	0,0416
s__Dorea_sp_AF36_15AT	0,0417
s__Segatella_brasiliensis	0,0428
s__Pseudoflavonifractor_gallinarum	0,0444
s__Streptococcus_mitis	0,0451
s__Clostridia_bacterium	0,0490
s__Clostridium_methylpentosum	0,0490