



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE NUTRIÇÃO**

CAMILA SANTOS BERTOLDI

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE MATERNA E DIABETES MELLITUS
GESTACIONAL COM O MICROBIOMA DO LEITE HUMANO: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

**Porto Alegre
2024**

CAMILA SANTOS BERTOLDI

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE MATERNA E DIABETES MELLITUS
GESTACIONAL COM O MICROBIOMA DO LEITE HUMANO: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Grau em Nutrição.

Orientador(a): Prof. Dra. Michele Drehmer
Coorientador(a): Nut. Ms. Maria Fernanda Souza
Moreira

Porto Alegre

2024

CIP - Catalogação na Publicação

Bertoldi, Camila
ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE MATERNA E DIABETES
MELLITUS GESTACIONAL COM O MICROBIOMA DO LEITE HUMANO:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA / Camila Bertoldi. -- 2024.
61 f.
Orientadora: Michele Drehmer.

Coorientadora: Maria Fernanda Souza Moreira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Medicina, Curso de Nutrição, Porto Alegre, BR-RS,
2024.

1. Leite Humano. 2. Amamentação. 3. Mibrobioma. 4.
Microbiota. I. Drehmer, Michele, orient. II. Souza
Moreira, Maria Fernanda, coorient. III. Título.

CAMILA SANTOS BERTOLDI

ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE MATERNA E DIABETES MELLITUS
GESTACIONAL COM O MICROBIOMA DO LEITE HUMANO: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado à Faculdade de
Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para
a obtenção do título de Grau em Nutrição.

Aprovado em: 18/01/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Nut. Vera Lúcia Bosa
Departamento de Nutrição - UFRGS

Prof^a. Dra. Nut. Vivian Cristine Luft
Departamento de Nutrição - UFRGS

Orientadora: Prof^a Dra Nut. Michele Drehmer
Departamento de Nutrição - UFRGS

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não teria sido concluída sem o incentivo e apoio de diversas pessoas durante a minha jornada acadêmica e de vida.

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais, Maria Zoreti e Sergio, pelo incentivo em realizar a graduação em nutrição, mesmo quando eu não acreditava que este sonho pudesse ser concretizado.

Ao meu amor e companheiro, Cristian, que me acompanhou durante todos os desafios durante este processo, desde o vestibular até os dias e noites dedicados ao estudo em meio à pandemia.

À professora Michele Drehmer, minha orientadora, por ter me concedido a oportunidade de participar de inúmeros projetos voltados à saúde materno-infantil e à pesquisa durante a graduação em Nutrição. Desde a participação como extensionista do grupo de gestantes da UBS Santa Cecília, como bolsista de iniciação científica do projeto Maternar, até os atendimentos na famosa “UIO” do HCPA em conjunto de toda nossa equipe. Muito obrigada por sua dedicação ao ensino e pesquisa na universidade!

À Maria Fernanda pelo auxílio e coorientação neste trabalho.

À Maria Vitória, que abraçou a oportunidade de participar da elaboração deste trabalho, atuando como co-revisora.

À toda equipe do estudo Maternar, por todo aprendizado e pela vivência da extensão e pesquisa durante a graduação.

À minha amiga e companheira de graduação, Ana Teresa, por todas as risadas, conversas infinitas no whatsapp, companheirismo e motivação para os inúmeros trabalhos, apresentações, seminários, estudos de caso e provas, desde o início da graduação, até o período de estágios.

Ao meu amigo e dupla de estágio e epidemiologia, Gabriel, por todas as risadas com nosso trio da nutrição e, em especial, pelas conversas motivacionais e pelo apoio nos momentos de ansiedade. Te admiro muito!

Por fim, a todas as pacientes, que contribuíram para a minha formação como nutricionista!

RESUMO

Introdução: Os estudos sobre os efeitos benéficos de microrganismos presentes no leite humano (LH) são emergentes. Sabe-se que alterações metabólicas, tais como obesidade e diabetes mellitus gestacional (DMG) parecem estar relacionadas a modificações no microbioma intestinal materno e, também, na composição do LH. Porém, o conhecimento a respeito da influência da obesidade materna e da exposição ao DMG no microbioma do LH ainda são escassos. **Objetivo:** Sumarizar as evidências a respeito da influência da obesidade e do DMG na variedade e/ou composição do microbioma do LH. **Métodos:** Foi conduzida uma revisão sistemática com base nas diretrizes PRISMA. A busca foi realizada nas bases de dados MEDLINE, *Web Of Science* e EMBASE. Foram considerados elegíveis estudos observacionais, transversais, caso-controle e coorte, compostos por lactantes expostas à obesidade e/ou DMG. O risco de viés foi avaliado pela ferramenta ROBINS-E. **Resultados:** Foram localizados 1.125 estudos, sendo que sete estudos foram selecionados para análise final, com amostras entre 18 a 155 lactantes. A classificação "muito alto risco" de viés ocorreu em todos os estudos incluídos. A exposição ao DMG e, principalmente, à obesidade materna, se associaram a alterações na variedade e/ou composição do microbioma do LH. Lactantes expostas à obesidade parecem possuir maior prevalência do gênero *Staphylococcus* e menor prevalência do gênero *Bifidobacterium* em seu LH. Lactantes expostas ao DMG parecem ter maior prevalência do gênero *Staphylococcus*, *Gemella* e *Prevotella* em seu LH. Os achados referentes à maior ou menor prevalência de filos bacterianos foram inconclusivos. **Conclusão:** A presente revisão sistemática verificou que a exposição ao DMG e, principalmente, à obesidade materna, se associaram a alterações na variedade e/ou composição do microbioma do LH. Contudo, todos os estudos foram classificados como com muito alto risco de viés devido às diferentes técnicas de análise e coleta do LH e, também, em função da ausência de informações a respeito de fatores confundidores.

Palavras chave: Leite Humano; Amamentação; Microbioma; Microbiota.

ABSTRACT

Introduction: Studies on the beneficial effects of microorganisms present in human milk (HM) are emerging. It is known that metabolic changes, such as obesity and gestational diabetes mellitus (GDM) appear to be related to changes in the maternal gut microbiome and also in the composition of HM. However, knowledge regarding the influence of maternal obesity and exposure to GDM on the HM microbiome is still scarce. **Objective:** To summarize the evidence regarding the influence of obesity and GDM on the variety and/or composition of the HM microbiome. **Methods:** A systematic review was conducted based on PRISMA guidelines. The structured search was performed in MEDLINE, Web Of Science and EMBASE databases. Observational, cross-sectional, longitudinal, case-control and cohort studies, composed of breastfeeding women exposed to obesity and/or GDM, were considered eligible. The risk of bias was assessed using the ROBINS-E tool. **Results:** 1,125 studies were identified, and seven studies were selected for final analysis, with samples ranging from 18 to 155 breastfeeding women, were analyzed. There was a very high risk of bias in all included studies. Exposure to GDM and, mainly, maternal obesity, were associated with changes in the variety and/or composition of the HM microbiome. Breastfeeding mothers exposed to obesity appear to have a higher prevalence of the genus *Staphylococcus* and a lower prevalence of the genus *Bifidobacterium* in their HM. Breastfeeding mothers exposed to GDM appear to have a higher prevalence of the genus *Staphylococcus*, *Gemella* and *Prevotella* in their HM. Results regarding the higher or lower prevalence of bacterial phylum level were inconclusive. **Conclusion:** The present systematic review found that exposure to GDM and, mainly, maternal obesity, were associated with changes in the variety and/or composition of the HM microbiome. However, all studies were classified as having a very high risk of bias due to different HM analysis and collection techniques and also due to the lack of information regarding several confounding factors.

Keywords: Human Milk; Breastfeeding; Microbiome; Microbiota.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AME	Aleitamento Materno Exclusivo
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DM II	Diabetes Mellitus tipo II
GPG	Ganho de Peso Gestacional
IMC	Índice de Massa Corpórea
LH	Leite Humano
OLH	Oligossacarídeo de Leite Humano
PP	Pós-Parto
TGI	Trato Gastrointestinal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Composição do leite humano e benefícios do aleitamento.....	12
2.2 Microbioma humano e sua relação com a saúde materno-infantil.....	13
2.3 Microbioma do leite humano.....	16
2.4 Fatores que parecem alterar a composição do leite humano.....	18
3 JUSTIFICATIVA.....	22
4 OBJETIVOS.....	23
5 METODOS.....	24
5.1 Critérios de Elegibilidade.....	24
5.2 Desfecho.....	24
5.3 Fontes de Informação.....	24
5.4 Estratégia de Busca.....	25
5.5 Seleção de estudos.....	25
5.6 Extração de dados.....	25
5.7 Avaliação do Risco de Viés.....	26
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
REFERÊNCIAS.....	28
TABELA 1.....	35
TABELA 2.....	36
ANEXOS.....	38

1 INTRODUÇÃO

Os estudos sobre os efeitos benéficos de microrganismos e sua relação com a saúde humana vem recebendo atenção especial nos últimos 15 anos, com a proposição de que a sua presença no corpo humano auxiliam a mediar a digestão, além de influenciarem processos patológicos (KNIGHT *et al*, 2017). O leite humano (LH) é considerado um alimento vivo, possuindo em sua composição microrganismos que são os primeiros colonizadores do microbioma do trato gastrointestinal (TGI) infantil. Crianças amamentadas possuem microbioma intestinal distinto das alimentadas com fórmula infantil (WANG *et al*, 2015). O aleitamento, por sua vez, confere benefícios à saúde da criança e da mãe. Mulheres que amamentam possuem risco reduzido de desenvolverem câncer de mama, diabetes *mellitus* tipo II (DM II) e diminuição da retenção do ganho de peso gestacional (GPG) (VICTORA, *et al* 2016; KAC, *et al* 2004), crianças amamentadas possuem menor risco para o desenvolvimento de infecções, risco reduzido de mortalidade e redução de risco de desenvolverem obesidade e outras doenças crônicas na vida adulta (VICTORA, *et al* 2016). Assim, o LH parece mediar direta ou indiretamente, por meio de seus efeitos no microbioma infantil, a saúde da criança. Ainda, padrões anormais de colonização microbiana podem ter efeito deletério à longo prazo na homeostase imune e metabólica infantil (VICTORA, *et al* 2016).

Por outro lado, alterações metabólicas, tais como obesidade e diabetes *mellitus* gestacional parecem estar relacionadas a modificações no microbioma intestinal materno (CATALANO *et al*, 2006). Estes fatores também parecem afetar a composição nutricional do LH (AMARAL *et al*, 2019; PEILA *et al*, 2020). Ainda, estudos recentes a respeito da origem do microbioma do LH sugerem que bactérias presentes no TGI materno poderiam translocar-se para a glândula mamária a partir de uma rota intitulada “entero-mamária” para posteriormente colonizarem o TGI do bebê amamentado (RODRIGUEZ, 2014). Assim, pode-se pressupor que alterações metabólicas as quais as mães são expostas no período gestacional e pré-gestacional poderiam influenciar a abundância e diversidade do microbioma do LH.

Neste contexto, o interesse científico no impacto das condições maternas, como obesidade e diabetes mellitus gestacional (DMG), sobre o microbioma do leite humano tem crescido. Uma revisão recente propõe que diversos fatores parecem afetar a composição microbiana do LH, incluindo estágio de lactação, idade gestacional (IG) de nascimento do recém-nascido, índice de massa corporal (IMC) materno, infecções, localização geográfica, via de parto e uso de medicamentos (ZIMMERMAN & CURTIS, 2020). No entanto, os resultados a respeito da influência em específico da obesidade materna e da exposição ao DMG ainda são escassos. Além disso, grande parte das revisões acerca do microbioma, possuem seu enfoque no microbioma intestinal materno e/ou infantil.

Diante da crescente prevalência da obesidade materna e do DMG e da importância do aleitamento materno exclusivo (AME) para a saúde materno infantil é importante buscarmos compreender a relação entre estas patologias e o microbioma do LH. Nesse sentido, o objetivo desta revisão sistemática foi sumarizar as evidências a respeito da influência da obesidade e do DMG na variedade e/ou composição do microbioma do leite humano.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Composição do leite humano e benefícios do aleitamento

O leite humano (LH) é considerado um alimento essencialmente completo, unicamente adequado em composição nutricional e em compostos bioativos que promovem desenvolvimento adequado e saudável para seres humanos (BALLARD & MORROW, 2013). A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2002) e o Ministério da Saúde (BRASIL, 2019) recomendam o aleitamento materno exclusivo (AME) durante os primeiros 6 meses de vida da criança, sem adição de outros alimentos, água, chás ou sucos e a continuidade da oferta de leite humano em conjunto à alimentação complementar até 2 anos de vida ou mais. Os benefícios do aleitamento são amplos tanto para a lactante, quanto para o lactente. Mulheres que amamentam apresentam redução do risco de desenvolverem câncer de mama e diabetes *mellitus* tipo II (DM II), bem como aumento do tempo de espaçamento entre partos (VICTORA, *et al* 2016) e diminuição da retenção de peso no pós-parto (KAC, *et al* 2004). Crianças amamentadas apresentam proteção para o desenvolvimento de infecções, acarretando na redução de risco de mortalidade e, ainda, aumento da inteligência e cognição e redução do risco de desenvolvimento de obesidade e doenças crônicas na vida adulta (VICTORA, *et al* 2016). Ainda, recém-nascidos pré-termo que recebem leite humano apresentam menor risco de desenvolverem complicações relacionadas à prematuridade, como enterocolite necrosante (SULLIVAN *et al*, 2009), sepse neonatal (FURMAN *et al*, 2003) e readmissões hospitalares após a alta (VOHR *et al*, 2007).

Estes efeitos benéficos estão associados a composição única do LH, composto por macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos), micronutrientes (vitaminas e minerais) e compostos bioativos (citocinas, hormônios, fatores de crescimento, oligossacarídeos, microrganismos, dentre outros) em sua composição. Por ser um alimento vivo, sabe-se que a composição do LH é constantemente alterada durante uma sessão de aleitamento, assim como durante diferentes períodos de lactação, para refletir as necessidades do lactente (ANDREAS *et al*, 2015). Quanto às fases da lactação, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2022) as divide em 3 fases de acordo com diferentes características nutricionais do LH,

especialmente durante o período inicial da lactação. Estas podem ser divididas em: 1) Fase do Colostro, presente nos primeiros dias de vida do bebê, sendo rico em imunoglobulinas; 2) Fase do LH de Transição, presente entre 6º e 15º de nascimento do bebê, rico em gorduras e carboidratos; e, por fim, 3) LH maduro, presente por volta do primeiro mês de vida do recém nascido.

Os compostos bioativos presentes no LH são um tópico de estudo emergente. Estes, podem ser definidos como elementos que afetam processos biológicos e que geram impactos na função ou condição do corpo humano, afetando, portanto, a saúde (BALLARD & MORROW, 2013). Ainda, sabe-se que os compostos bioativos presentes no LH podem atuar contra infecções e inflamações através de antígenos e proteínas imunomoduladoras, contribuindo para a maturação do sistema imune (BALLARD & MORROW, 2013) e, também, para uma colonização microbiana saudável, através de bactérias colonizadoras e nutrientes na forma de oligossacarídeos do leite humano (OLHs), que atuam como substratos para a microbiota da criança (ANDRES *et al*, 2023).

2.2 Microbioma humano e sua relação com a saúde materno-infantil

O corpo humano abriga trilhões de microorganismos. Deste modo, os estudos sobre microrganismos e sua relação com a saúde humana vêm recebendo atenção especial nos últimos 15 anos. Como exemplo, é possível citar os estudos sobre microbiota intestinal - entre 2013 e 2017 o número de publicações com foco neste tema foi de 12.900, o que representa 80% do total de publicações nos últimos 40 anos sobre o assunto (CANI, 2018). Ainda, as pesquisas sobre o microbioma e a microbiota vem remodelando o entendimento sobre a biologia humana, sugerindo que microrganismos presentes em nosso organismo mediam a digestão além de influenciarem processos patológicos (KNIGHT *et al*, 2017).

O termo “microbioma” foi utilizado inicialmente para referir-se a coleção de genes contidos em uma comunidade de microrganismos. O termo “microbiota”, por outro lado, era utilizado para se referir a todos microrganismos presentes em uma comunidade, incluindo bactérias, fungos e protistas. Este último, quando utilizado para descrever uma comunidade microbiana específica é usualmente acompanhado do local, por exemplo: “microbiota intestinal” ou “microbiota oral”. No entanto, os

termos “microbioma” e “microbiota” vem sendo utilizados de maneira intercambiável para referir-se aos microorganismos presentes em uma comunidade (KNIGHT *et al*, 2017), de forma que neste trabalho utilizaremos os termos a partir desta perspectiva.

Nos seres humanos, a maior parte de nosso microbioma reside no trato gastrointestinal (TGI) (PETERSON *et al*, 2009). A microbiota do TGI é composta por diferentes bactérias, classificadas por gênero, família, ordem e filo - sendo que os filos predominantes pertencem aos Firmicutes e Bacteroidetes, que compõem cerca de 90% da comunidade bacteriana intestinal. Sabe-se que fatores externos e internos influenciam a composição deste microbioma, tais como a via de parto, a idade gestacional do nascimento, as características genéticas, a resposta imune, a dieta (incluindo uso de suplementos, amamentação e uso de fórmula infantil), o uso de antibióticos e outros medicamentos, infecções, o ciclo circadiano e a exposição microbiana no ambiente (LYNCH, 2016). Quanto aos fatores externos, sabe-se que a dieta possui um papel importante em modelar a composição do microbioma do TGI. Em contrapartida, o microbioma é essencial para a digestão e metabolização de polissacarídeos não digeríveis e na absorção de ácidos graxos de cadeia curta produzidos pela fermentação bacteriana (TURNBAUGH, 2006). Quanto a diferentes padrões dietéticos e sua influência sobre o microbioma do TGI, sabe-se que uma dieta de padrão ocidental, por exemplo, alta em proteína e gordura animal e baixa em fibras, leva a uma diminuição no número total de bactérias e de espécies benéficas presentes no TGI como *Bifidobacterium* e *Eubacterium* (SINGH *et al*, 2017).

Ainda, foram documentadas diferenças entre o microbioma intestinal de indivíduos obesos em relação a indivíduos eutróficos. O estudo de Turnbaugh (2006) documentou que há um aumento da abundância de espécies Bacteroidetes em relação às do filo Firmicutes quando indivíduos obesos perdem peso mesmo em dietas ricas ou altas em gordura e carboidrato. O estudo de Ley e colaboradores (2005) também documentou que participantes obesos em dietas restritas em caloria obtiveram aumento da proporção de Bacteroidetes, o que se correlacionou com a redução do peso. Uma revisão sistemática conduzida sobre o tema (PINART *et al*, 2022) verificou que há menor diversidade no microbioma de indivíduos obesos, além de maior quantidade de bactérias Firmicutes, apesar da grande heterogeneidade entre artigos.

Quanto à saúde materno infantil de acordo com o *National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine* (NASEM, 2020) a exposição do binômio mãe-bebê a diferentes fatores têm o potencial de influenciar o microbioma infantil. A idade gestacional do nascimento, por exemplo, parece ser um fator determinante para a colonização bacteriana de um recém nascido. Bebês prematuros (nascidos antes de 37 semanas de gestação) parecem ter microbioma intestinal distinto daqueles nascidos à termo, exibindo uma menor diversidade microbiana e predomínio de colonização de bactérias potencialmente patogênicas da família *Enterobacteriaceae* do filo Proteobacteria e níveis reduzidos de bactérias *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Atopobium* (RINNINELLA *et al*, 2019). Ainda, a via de nascimento - vaginal ou cesárea - parece influenciar a colonização do microbioma intestinal do recém nascido. Alguns estudos demonstram que recém nascidos, nascidos via parto vaginal, adquirem uma composição microbiana semelhante ao microbioma vaginal da mãe, com predomínio de bactérias do gênero *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia* no mecônio (DOMINGUEZ-BELLO *et al*, 2010) e, também, predomínio de grupos como *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium catenulatum*. Já bebês nascidos via cesárea parecem possuir no microbioma do mecônio bactérias presentes no ambiente hospitalar e na pele da mãe, como *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium spp.* Em adição, sabe-se que o nascimento via cesárea associa-se a um aumento do risco de doenças crônicas imunes, como asma, artrite juvenil, doença inflamatória intestinal e obesidade (RINNINELLA *et al*, 2019).

Em contraponto, de acordo com NASEM (2020) apesar de sabermos que existe uma transmissão vertical de microrganismos da mãe para o seu bebê durante a gestação e o nascimento ainda é necessário compreender como se adquire o microbioma comensal e como ocorre a diferenciação entre o microbioma comensal e patogênico durante o desenvolvimento da criança. Em adição, outros estudos sugerem que o microbioma vaginal durante a gestação não é semelhante ao microbioma infantil intestinal na primeira semana de vida (AAGAARD *et al*, 2012; CHU *et al*, 2017; JOST *et al*, 2012), o que fez com que alguns pesquisadores explorassem outras fontes e modificadores do microbioma infantil, como a placenta e a dieta materna (NASEM, 2020). Chu *et al* (2017) verificaram que recém nascidos de mães que consumiam mais que 30% de energia diária via gorduras possuíam

diferentes microbiomas ao nascimento do que aqueles que consumiam dietas baixas em gorduras, sendo que estas alterações pareceram persistir ao longo do tempo. No entanto, no estudo de Chu *et al* (2017) os recém nascidos foram amamentados, o que dificultou determinar se os resultados foram decorrentes de exposição da dieta rica em gorduras durante a gestação ou ao aleitamento materno.

Quanto ao aleitamento materno, foi observada distinção da microbiota infantil entre crianças amamentadas e os que são alimentados com fórmula infantil. Os amamentados possuem de maneira predominante em seu microbioma intestinal bactérias do filo Bacteroidetes, já os alimentados com fórmula infantil possuem predomínio do filo Firmicutes e Verrucomicrobia (WANG *et al*, 2015). Outros estudos demonstraram que crianças alimentadas com fórmulas são mais frequentemente colonizadas por *Escherichia coli*, *Bacteroides* e *Clostridium difficile* quando comparadas às crianças amamentadas (AZAD *et al*, 2013; ROGER *et al*, 2010). Além disso, de acordo com Roger e colaboradores (2010), bebês amamentados possuem maior diversidade em seu microbioma e maior presença de *Bifidobacterium* quando comparados às crianças que utilizam fórmula.

Ainda, sabe-se que a obesidade gestacional está associada à alterações na microbiota intestinal materna. Além disso, a obesidade materna está associada a um maior risco de desenvolvimento de obesidade infantil e síndrome metabólica (CATALANO *et al*, 2006). Um estudo realizado por Collado e colaboradores (2008), reportou que mulheres com IMC pré-gestacional categorizado como sobrepeso (definido como ≥ 25 e ≤ 30 kg/m²) ou obesas (definido como ≥ 30 kg/m²) possuíam maior abundância de bactérias Bacteroides e Staphylococcus no seu intestino comparadas à mulheres de IMC normal (definido como $\leq 24,9$ Kg/m²).

2.3 Microbioma do leite humano

Até os anos 2000 acreditava-se que o LH era um alimento estéril (ANDRES *et al*, 2023). Até então, artigos publicados a respeito de bactérias presentes no LH enfatizavam a preocupação com microorganismos potencialmente patogênicos a partir de contaminações durante a coleta, fator de preocupação importante

principalmente em ambientes hospitalares de coleta de LH, tais como bancos de leite (HEIKKILA *et al*, 2003). A concepção de que o LH era um alimento estéril modificou-se gradualmente com o isolamento de bactérias em amostras de LH de mulheres saudáveis (SELMA-ROYO *et al*, 2021) e com o avanço de técnicas como a de reação em cadeia de polimerase (PCR) com amplificação de RNAr 16S bacteriano (ANDRES *et al*, 2023). A detecção de bactérias vivas e/ou de DNA bacteriano de espécies anaeróbias usualmente relacionadas ao intestino, que não sobrevivem em ambientes aeróbios - como por exemplo, a pele humana - também fez com que o debate científico acerca de bactérias presentes do LH aflorasse (RODRIGUEZ, 2014).

As primeiras descrições da comunidade bacteriana presente no LH em mulheres saudáveis foram reportadas em 2003, a partir de métodos tradicionais de cultura bacteriana *in vitro* (HEIKKILA *et al*, 2003; MARTÍN *et al*, 2003). Tais estudos, demonstraram a presença de bactérias do gênero *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Bifidobacterium*, bem como bactérias lácticas no LH, como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*. As espécies bacterianas isoladas mais frequentemente do LH incluem *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium breve* e *Bifidobacterium bifidum* (JEURINK *et al*, 2013). Uma revisão sistemática elaborada por Togo e colaboradores (2019) observou a presença de mais de 303 gêneros bacterianos no LH, incluindo *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Enterococcus* e *Streptococcus*. Nesta revisão os autores observaram uma predominância de bactérias do filo Firmicutes (ex.: *Streptococcus*, *Staphylococcus*), Actinobacteria (ex.: *Propionibacterium* e *Corynebacterium*), Bacteroidetes (ex.: *Prevotella* e *Weeksella*) e Proteobacteria (ex.: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Sphingomonas* e *Bradyrhizobium*) sendo que a maior parte das bactérias presentes corresponde ao filo Proteobacteria e Firmicutes.

Métodos de cultura independente bacteriana baseadas em técnicas de amplificação do RNAr 16S vem demonstrando uma composição microbiana altamente diversa e complexa do LH, com alterações a depender do perfil individual da lactante e do lactente (HUNT *et al*, 2011). Fatores como método de coleta, tipo de leite (maduro ou colostro) e status de saúde materno e infantil (indivíduos saudáveis,

presença de mastite ou infecções neonatais) parecem influenciar na variabilidade do microbioma do LH (TOGO *et al*, 2019).

Ainda, estudos recentes sugerem que algumas bactérias do TGI materno podem translocar-se para as glândulas mamárias para colonizar subsequentemente o TGI do bebê, visto que o microbioma de fezes maternas, de recém nascidos e do LH compartilham gêneros bacterianos e é incerta a origem do microbioma presente no leite humano e nas glândulas mamárias (JOST *et al*, 2014). Rodriguez (2014) descreve que determinadas bactérias presentes no TGI materno poderiam translocar-se a partir de mecanismos envolvendo células mononucleares do sistema imune a partir de uma rota celular endógena, chamada de “caminho bacteriano entero-mamário”, e colonizar posteriormente o TGI do bebê amamentado. Esta teoria delimita que o mecanismo envolveria células dendríticas e CD18, que seriam capazes de cooptar bactérias não patogênicas do lúmen intestinal e transportá-las para outros locais através da circulação linfática, incluindo a glândula mamária em lactação (RODRIGUEZ, 2014). Com isto, é pressuposto que alterações na abundância e diversidade do microbioma intestinal materno ao longo da gestação poderiam atuar em modificações no microbioma do LH, influenciando, por fim, o estabelecimento adequado do microbioma intestinal do recém nascido.

De acordo com Victora e colaboradores (2016) a influência do LH na saúde materno infantil pode ser mediada diretamente ou por meio de efeitos deste na microbiota infantil. Segundo o autor, a capacidade da microbiota em regular respostas no hospedeiro durante a infância depende de diversos fatores, incluindo as espécies bacterianas individuais, que possuem o potencial de regular células do sistema imune, respostas metabólicas, adipogênese e, possivelmente, o desenvolvimento cerebral e de funções cognitivas. Para Victora e colaboradores padrões anormais de colonização microbiana possuem um efeito deletério em longo prazo na homeostase imune e metabólica infantil.

2.4 Fatores que parecem alterar a composição do leite humano

A distinta composição do LH e os seus inúmeros benefícios à criança fez surgir o interesse na associação entre os seus componentes e o status metabólico

materno e a saúde infantil. Ademais, como já descrito, nos últimos anos novas tecnologias permitiram análises mais robustas da composição do LH, o que vem incentivando a investigação da relação entre seu conteúdo com determinados desfechos ou exposições.

Quanto à relação entre estado nutricional materno e composição do LH, o estudo DARLING (NOMMSEN, 1991) reportou que mães com maior peso possuem maior conteúdo lipídico no LH. Além disso, mulheres obesas demonstraram ter maior conteúdo de ômega-6 e menor conteúdo de ômega-3 no LH, comparadas com mulheres eutróficas (GARCÍA-REVELO *et al*, 2018; PANAGOS *et al*, 2016). Contudo, outros estudos exibem nenhuma ou pouca diferença entre a composição do LM em relação ao IMC pré-gestacional ou gestacional (CHANG *et al*, 2015; MICHAELSEN *et al*, 1994; QUINN *et al*, 2012).

A respeito do diabetes mellitus gestacional (DMG), uma revisão de escopo realizada por Peila e colaboradores (2020) acerca da influência do diabetes mellitus tipo II (DMII) e DMG na composição do LH identificou resultados conflitantes a respeito da influência das patologias na composição do LH. Nos resultados, os autores observaram resultados opostos em alguns marcadores, por exemplo: maior (DRITSAKOU *et al*, 2017) ou menor (SHAPIRA *et al*, 2019) conteúdo calórico do LH de mães com DMG. Ainda, a respeito de hormônios encontrados no LH, os autores também verificaram conflitos nos resultados dos estudos avaliados. A respeito dos níveis de insulina, alterações metabólicas como IMC pré-gestacional elevado e DMG foram associadas a maiores níveis de insulina no LH (LEY *et al*, 2012; YU *et al*, 2018). No entanto, Nunes e colaboradores (2017) não encontraram diferenças nos níveis hormonais do LH de mulheres que tiveram DMG. Ainda, uma revisão sistemática acerca de alterações de hormônios metabólicos no LH de mulheres com DMG (SUWAYDI *et al*, 2022) reportou relação entre DMG e concentrações de grelina, insulina e adiponectina no LH. No entanto, os autores relatam alta heterogeneidade nos estudos e sugerem que estas alterações podem ser restritas aos estágios iniciais da lactação, especialmente o colostro e o leite de transição.

Quanto ao microbioma do LH, diversos fatores parecem afetar a sua composição como já descrito anteriormente, incluindo o estágio da lactação, a idade gestacional de nascimento do recém nascido, o índice de massa corporal (IMC)

materno, infecções - como mastites e HIV, a localização geográfica, a dieta, a via de parto e uso de medicamentos - especialmente antibióticos (ZIMMERMAN & CURTIS, 2020). No entanto, fatores como etnia e localização geográfica tipicamente se confundem com fatores como dieta materna, tornando mais desafiadora a avaliação do impacto de cada um dos fatores, visto que a etnia, a renda e a localização geográfica das populações estudadas variam (LEMAY-NEDJELSKI et al, 2020). Ainda, conforme revisão de escopo proposta por Zimmerman & Curtis a respeito de fatores que podem afetar a microbiota do LH, mães com o IMC materno elevado parecem possuir uma comunidade bacteriana menos diversa com quantidades maiores de bactérias do gênero *Lactobacillus* no colostro e quantidades maiores de bactérias do gênero *Akkermansia*, *Granulicatella* e *Staphylococcus* no leite maduro. Por outro lado, os autores verificaram na revisão que alguns estudos reportaram nenhuma influência do IMC materno na composição da microbiota do LH, ressaltando que muitos dos estudos são contraditórios nos resultados.

3 JUSTIFICATIVA

A partir dos dados apresentados na literatura é possível notar que o avanço de tecnologias de métodos de cultura independente bacteriana, tais como PCR, aprofundaram o interesse em desvendar aspectos do microbioma humano. Porém, grande parte das revisões acerca do microbioma possuem seu enfoque no microbioma intestinal. O LH, no entanto, possui potencial de moldar o microbioma intestinal, visto que é fonte de bactérias e outros compostos bioativos que agem como prebióticos no TGI. Contudo, doenças metabólicas como obesidade e DMG possuem o potencial de afetar a composição do LH, apesar da literatura ainda ser recente e conflitante, como já descrito anteriormente. Em complemento, os estudos a respeito do microbioma do LH são emergentes e os resultados a respeito da influência de comorbidades maternas, como obesidade e DMG, em sua composição possuem resultados discordantes, em função de diferenças entre metodologias e fatores confundidores. Desta maneira, evidencia-se a necessidade de realização de uma revisão sistemática para verificar se existe influência da obesidade materna e da exposição ao DMG no microbioma do LH. A revisão sistemática possibilitará a sumarização dos resultados das pesquisas desenvolvidas sobre a temática para melhor compreensão do tema, que é tão importante para a saúde materno-infantil.

4 OBJETIVOS

Sumarizar as evidências a respeito da influência da obesidade e do DMG na variedade e/ou composição do microbioma do leite humano.

5 MÉTODOS

O trabalho trata-se de uma revisão sistemática conduzida a partir das diretrizes estabelecidas pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA, 2020) e *Cochrane Handbook for Systematic Reviews* (Cochrane, 2023). A revisão foi cadastrada na plataforma *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO). Considerou-se a seguinte questão de pesquisa norteadora: a obesidade e o diabetes mellitus gestacional modificam a variedade e/ou composição do microbioma do leite humano?

5.1 Critérios de Elegibilidade

Foram incluídos na revisão estudos observacionais, transversais, longitudinais, caso-controle e coorte considerando que fossem incluídos dados sobre IMC materno pré-gestacional ou atual e/ou diagnóstico materno de DMG e avaliação da exposição a estes fatores e sua associação com o microbioma do leite humano. Foram excluídos estudos de caso, editoriais e notas, resumos para congresso, ensaios clínicos randomizados, estudos quasi-experimentais e estudos experimentais, além de estudos que não avaliaram IMC materno e/ou diagnóstico de DMG. A estratégia PECO (MORGAN *et al*, 2019) foi utilizada para a organização da revisão (Tabela 1).

5.2 Desfecho

O desfecho avaliado foram as alterações na variedade e/ou composição do microbioma do leite humano, medidas preferencialmente por métodos independentes de cultura bacteriana.

5.3 Fontes de Informação

Para identificação de artigos potencialmente relevantes as seguintes bases de dados foram utilizadas: MEDLINE (via PUBMED), *Web Of Science* e EMBASE.

5.4 Estratégia de Busca

A estratégia de busca foi desenvolvida com auxílio de bibliotecário experiente para a base de dados MEDLINE e posteriormente adaptada para outras bases de dados. A busca foi restrita para estudos publicados em inglês, português ou espanhol. Não houve restrição quanto ao ano de publicação. A estratégia completa está apresentada na Tabela 2.

5.5 Seleção de Estudos

Dois pesquisadores independentes (C.S.B & M.V) analisaram os resultados da estratégia de busca em duas fases: análise de títulos e resumos e, posteriormente, análise completa dos estudos relevantes. Na primeira fase foi utilizado o *Software Rayyan*, de maneira independente entre os revisores, para inclusão e exclusão dos artigos. Além disso, as referências de estudos incluídos na revisão foram igualmente consultadas com o objetivo de recuperar todas evidências disponíveis a respeito da temática. Discrepâncias quanto à inclusão ou exclusão dos estudos foram resolvidas por um terceiro revisor independente (M.F.M.).

5.6 Extração de dados

A extração de dados foi realizada de maneira independente por (C.S.B & M.V) utilizando um formulário padronizado, com os seguintes dados extraídos: identificação do estudo (autores, ano e país de publicação); perfil populacional da amostra (incluindo nacionalidade, tamanho amostral e período da lactação da coleta); critérios de inclusão e exclusão da amostra; exposições avaliadas no estudo (além de IMC materno e/ou DMG); controle (característica do grupo controle); método de avaliação do microbioma do leite humano; método de coleta do LH; desfechos avaliados (modificações no microbioma em relação à exposição) e principais resultados (incluindo filós e gêneros bacterianos identificados).

5.7 Avaliação do risco de viés

O risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática foi avaliado por uma das revisoras (C.S.B) com auxílio da ferramenta *Risk Of Bias In Non-randomized Studies - of Exposure* (ROBINS-E) (2023). Em caso de dúvidas consultou-se um segundo revisor (M.F.M.). Os itens utilizados pela ferramenta ROBINS-E para avaliar o risco de viés foram: 1) viés decorrente de confundidores; 2) viés decorrente da medição da exposição; 3) viés decorrente da seleção dos participantes no estudo ou análise; 4) viés decorrente de intervenções pós-exposição; 5) viés decorrente de dados faltantes; 6) viés decorrente de medição do desfecho; 7) viés decorrente da seleção dos resultados reportados. Cada domínio avaliado na ferramenta ROBINS-E é analisado utilizando uma série de perguntas para recolher informações relevantes a respeito dos artigos. As perguntas possuem como resposta as opções “sim”, “provavelmente sim”, “provavelmente não”, “não” e “sem informação”. As respostas “sim” e “provavelmente sim” têm a mesma implicação para avaliação do risco de viés, as respostas “não” e “provavelmente não”, também (ROBINS-E, 2023). O julgamento do risco de viés em cada domínio foi classificado pelos revisores como baixo risco (*low risk*), algumas preocupações (*some concerns*), alto risco (*high risk*) e muito alto risco (*very high risk*). Na ferramenta, se um domínio em específico é julgado em um nível particular de risco de viés, o resultado total do risco de viés deve ser considerado pelo menos tão severo quanto o daquele domínio.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente revisão sistemática verificou que a exposição ao DMG e, principalmente, à obesidade materna, se associaram a alterações na variedade e/ou composição do microbioma do LH. Lactantes expostas à obesidade parecem ter menor diversidade bacteriana em seu LH, maior presença do gênero *Staphylococcus* e menor presença do gênero *Bifidobacterium*. Lactantes expostas ao DMG parecem ter aumento do gênero *Staphylococcus*, *Prevotella* e *Gemella* em seu LH. No entanto, todos os estudos foram classificados como com muito alto risco de viés em função de diferentes técnicas de análise e coleta do LH e, também, em função da ausência de informações a respeito de diversos fatores confundidores. Nossos achados sugerem que futuramente sejam realizados mais estudos com uniformização das técnicas utilizadas para avaliação e coleta do LH e controle para fatores confundidores.

É importante ressaltar que apesar das alterações encontradas no LH em razão da exposição à determinadas comorbidades maternas, como DMG e obesidade, é consenso que o LH é a melhor fonte alimentar para crianças e que o AME deve ser mantido até os seis meses de vida da criança e que a oferta da amamentação deve ser continuada após a exposição à alimentos sólidos complementares até dois anos de vida ou mais.

Por fim, é importante que gestantes possuam um acompanhamento de pré-natal adequado, com aconselhamento nutricional para que mantenham um ganho de peso gestacional adequado, minimizando o impacto da obesidade e o risco de desenvolverem DMG ao longo de sua gestação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAGAARD, Kjersti, *et al.* A Metagenomic Approach to Characterization of the Vaginal Microbiome Signature in Pregnancy. **PLoS ONE**, vol. 7, no. 6, 13 Jun. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036466>

AMARAL, Yasmin Notarbartolo di Villarosa do, *et al.* Morbidades Maternas Modificam a Composição Nutricional Do Leite Humano? Uma Revisão Sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 24, no. 7, Jul. 2019, pp. 2491 - 2498. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232018247.18972017>

ANDREAS, Nicholas J., *et al.* Human Breast Milk: A Review on Its Composition and Bioactivity. **Early Human Development**, vol. 91, no. 11, Nov. 2015, pp. 629 - 635. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>

ANDRES, Sarah F., *et al.* Shaping Infant Development from the inside Out: Bioactive Factors in Human Milk. **Seminars in Perinatology**, vol. 47, no. 1, Dec. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2022.151690>

ASBURY, M. R.; *et al.* Mothers of Preterm Infants Have Individualized Breast Milk Microbiota that Changes Temporally Based on Maternal Characteristics. **Cell host & microbe**, vol. 28, n. 5, set. 2020, pp. 669 - 682. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.08.001>

AZAD, Meghan B., *et al.* Gut Microbiota of Healthy Canadian Infants: Profiles by Mode of Delivery and Infant Diet at 4 Months. **CMAJ: Canadian Medical Association Journal**, vol. 185, no. 5, 19 Mar. 2013, pp. 385 - 394. DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.121189>

BALLARD, Olivia; MORROW, L. A. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. **Pediatric Clinics of North America**, vol. 60, no. 1, Fev. 2013, pp. 49 - 74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2012.10.002>

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos. Brasília: **MS**; 2019. Brasil.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). O leite materno passa por transformações de acordo com cada etapa de desenvolvimento do bebê. Disponível em: <https://aps.saude.gov.br/noticia/18377>. Acesso em: 30 de dezembro de 2023.

CANI, Patrice D. Human Gut Microbiome: Hopes, Threats and Promises. **Gut**, vol. 67, no. 9, 22 Jun. 2018, pp. 1716 - 1725. DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316723>

CABRERA-RUBIO, R.; *et al.* The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. **The American journal of clinical nutrition**, vol. 96, n. 3, set. 2012, pp. 544 - 551. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.037382>

CATALANO, P. M.; EHRENBERG, H. M. Review Article: The Short- and Long-Term Implications of Maternal Obesity on the Mother and Her Offspring. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, vol. 113, no. 10, 7 Jul. 2006, pp. 1126 - 1133. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.00989.x>

CHANG, Namsoo; et al. Macronutrient Composition of Human Milk from Korean Mothers of Full Term Infants Born at 37-42 Gestational Weeks. **Nutrition Research and Practice**, vol. 9, no. 4, 2015, pp. 433. DOI: <https://doi.org/10.4162/nrp.2015.9.4.433>

CHAVOYA-GUARDADO, M. A.; et al. Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria in Human Milk and Maternal Adiposity. **Nutrients**, vol. 14, n. 14, jul. 2022, pp. 2887. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14142887>

CHU, Derrick M.; et al. Maturation of the Infant Microbiome Community Structure and Function across Multiple Body Sites and in Relation to Mode of Delivery. **Nature Medicine**, vol. 23, no. 3, 23 Jan. 2017, pp. 314 - 326. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.4272>

COLLADO, M. C.; ISOLAURI, E.; LAITINEN, K.; et al. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. **The American journal of clinical nutrition**, vol. 88, n. 4, 2015, pp. 894 - 899. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.4.894>

DOMINGUEZ-BELLO, Maria G; et al. Delivery Mode Shapes the Acquisition and Structure of the Initial Microbiota across Multiple Body Habitats in Newborns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, vol. 107, no. 26, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>

DRITSAKOU, Kalliopi; et al. The Impact of Maternal and Neonatal Associated Factors on Human Milk's Macronutrients and Energy. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, vol. 30, no. 11, Ago. 2016, pp. 1302–1308. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1212329>

DUVALLET, Claire; et al. Meta-analysis of gut microbiome studies identifies disease-specific and shared responses. **Nature communications**, vol. 8, n.1, Dez. 2017, pp. 1784. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01973-8>

FARHAT, S.; et al. Microbiome alterations in women with gestational diabetes mellitus and their offspring: A systematic review. **Frontiers in endocrinology**, vol. 13, n. 1060488, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1060488>

FURMAN, Lydia; et al. The Effect of Maternal Milk on Neonatal Morbidity of Very Low-Birth-Weight Infants. **Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine**, vol. 157, no. 1, Jan. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1001/archpedi.157.1.66>

GÁMEZ-VALDEZ, J. S.; et al. Differential analysis of the bacterial community in colostrum samples from women with gestational diabetes mellitus and obesity. **Scientific reports**, vol. 11, n. 1, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03779-7>

GARCÍA-RAVELO, Sara; et al. Fatty Acid Composition and Eicosanoid Levels of Human Milk from Normal Weight and Overweight Mothers. **Breastfeeding Medicine**, vol. 13, no. 10, Dez. 2018, pp. 702 - 710. DOI: <https://doi.org/10.1089/bfm.2017.0214>

GOHIR, W; et al. Of the bugs that shape us: maternal obesity, the gut microbiome, and long-term disease risk. **Pediatric Research**, vol. 77, jan. 2015, pp. 196 - 204. DOI: <https://doi.org/10.1038/pr.2014.169>

HEIKKILA, M.P; SARIS, P.E.J. Inhibition of Staphylococcus Aureus by the Commensal Bacteria of Human Milk. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 95, no. 3, Set. 2003, pp. 471 - 478. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x>

HUNT, Katherine M; et al. Characterization of the Diversity and Temporal Stability of Bacterial Communities in Human Milk. **PLoS ONE**, vol. 6, no. 6, 17 Jun. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021313>

JEURINK, P.V; et al. Human Milk: A Source of More Life than We Imagine. **Beneficial Microbes**, vol. 4, no. 1, Mar. 2013, pp. 17 - 30. DOI: <https://doi.org/10.3920/bm2012.0040>

JOHN, George Kunnackal; MULLIN, Gerard E. The Gut Microbiome and Obesity. **Current Oncology Reports**, vol. 18, no. 7, Jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11912-016-0528-7>

JOST, Ted; et al. New Insights in Gut Microbiota Establishment in Healthy Breast Fed Neonates. **PloS One**, vol. 7, no. 8, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044595>

JOST, Ted; et al. Vertical Mother-Neonate Transfer of Maternal Gut Bacteria via Breastfeeding. **Environmental Microbiology**, vol. 16, no. 9, Set. 2013, pp. 2891 - 2904. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12238>

KAC, Gilberto; et al. Breastfeeding and Postpartum Weight Retention in a Cohort of Brazilian Women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 79, no. 3, 1 Mar. 2004, pp. 487 - 493. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.3.487>

KNIGHT, Rob; et al. The Microbiome and Human Biology. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, vol. 18, no. 1, Ago. 2017, pp. 65 - 86. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083115-022438>

LEY, R. E.; et al. Obesity Alters Gut Microbial Ecology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 102, no. 31, Jul. 2005, pp. 11070 - 11075. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0504978102>

LEY, S. H.; et al. Associations of Prenatal Metabolic Abnormalities with Insulin and Adiponectin Concentrations in Human Milk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 95, no. 4, Apr. 2012, pp. 867 - 874. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.028431>

LEMAY-NEDJELSKI, L.; et al. Examining the relationship between maternal body size, gestational glucose tolerance status, mode of delivery and ethnicity on human milk microbiota at three months post-partum. **BMC microbiology**, vol. 20, n. 1, jul. 2020, pp. 219. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01901-9>

LEMAY-NEDJELSKI, L.; et al. Methods and Strategies to Examine the Human Breastmilk Microbiome. **Methods in molecular biology**, vol. 1849, 2018, pp. 63 - 86. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8728-3_5

LUNDGREN, S. N.; et al. Microbial Communities in Human Milk Relate to Measures of Maternal Weight. **Frontiers in microbiology**, vol. 10, n. 2886, dez. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02886>

LYNCH, S. V.; PEDERSEN, O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. **New England Journal of Medicine**, vol. 375, no. 24, 15, dez. 2016, pp. 2369 - 2379. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmra1600266>

MARTÍN, Rocío; et al. Human Milk Is a Source of Lactic Acid Bacteria for the Infant Gut. **The Journal of Pediatrics**, vol. 143, no. 6, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.09.028>

MEYER, K. M.; et al. Composition of the breast milk microbiome is influenced by the method of 16S-amplicon sequencing used. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, vol. 220, no. 1, jan. 2019, pp. 607 - 608. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.11.965>

MICHAELSEN, K F; et al. The Copenhagen Cohort Study on Infant Nutrition and Growth: Breast-Milk Intake, Human Milk Macronutrient Content, and Influencing Factors. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 59, no. 3, 1 Mar. 1994, pp. 600 - 611. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/59.3.600>

MOOSSAVI, Shirin; et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. **Cell Host & Microbe**, vol. 25, no. 2, Fev. 2019, pp. 324 - 335. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.011>

MORGAN, R. L; et al. A risk of bias instrument for non-randomized studies of exposures: A users' guide to its application in the context of GRADE. **Environment international**, 122, jan. 2019, p. 168 - 184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.004>

NOMMSEN, L. A.; et al. Determinants of Energy, Protein, Lipid, and Lactose Concentrations in Human Milk during the First 12 Mo of Lactation: The DARLING Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 53, no. 2, Fev. 1991, pp. 457 - 465. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.2.457>

NOTARBOLO, Veronica; et al. Composition of Human Breast Milk Microbiota and Its Role in Children's Health. **Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition**, vol. 25, no. 3, 2022, p. 194. DOI: <https://doi.org/10.5223/pghn.2022.25.3.194>

NUNES, Marina; et al. Could a Remarkable Decrease in Leptin and Insulin Levels from Colostrum to Mature Milk Contribute to Early Growth Catch-up of SGA Infants?. **BMC Pregnancy and Childbirth**, vol. 17, no. 1, Dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-017-1593-0>

PANAGOS, P. G; et al. Breastmilk from Obese Mothers Has Pro-Inflammatory Properties and Decreased Neuroprotective Factors. **Journal of Perinatology**, vol. 36, no. 4, 7 Jan. 2016, pp. 284 - 290. DOI: <https://doi.org/10.1038/jp.2015.199>

PETERSON, J.; et al. The NIH Human Microbiome Project. **Genome Research**, vol. 19, no. 12, Out. 2009, pp. 2317 - 2323. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>

PINART, Mariona; et al. Gut Microbiome Composition in Obese and Non-Obese Persons: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, vol. 14, no. 1, Dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14010012>

QUINN, Elizabeth A.; et al. Predictors of Breast Milk Macronutrient Composition in Filipino Mothers. **American Journal of Human Biology**, vol. 24, no. 4, Mar. 2012, pp. 533 - 540. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajhb.22266>

RINNINELLA, Emanuele; et al. What Is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. **Microorganisms**, vol. 7, no. 1, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>

RODRÍGUEZ, J. M. The Origin of Human Milk Bacteria: Is There a Bacterial Entero-Mammary Pathway during Late Pregnancy and Lactation?. **Advances in Nutrition**, vol. 5, no. 6, Nov. 2014, pp. 779 - 784. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.114.007229>

ROBINS-E Development Group (Higgins, J.; Morgan, R.; Rooney, A.; et al). **Risk Of Bias In Non-randomized Studies - of Exposure (ROBINS-E)**. Versão 20 Jun. 2023. Disponível em: <https://www.riskofbias.info/welcome/robins-e-tool>. Acesso em 28 de nov. 2023.

ROGER, L. C.; et al. Examination of Faecal Bifidobacterium Populations in Breast and Formula-Fed Infants during the First 18 Months of Life. **Microbiology**, vol. 156, no. 11, 23 Set. 2010, pp. 3329 - 3341. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.043224-0>

ROLD, L. S.; et al. Characteristics of the gut microbiome in women with gestational diabetes mellitus: A systematic review. **PloS one**, vol. 17, n. 1, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262618>

SELMA-ROYO, M.; et al. Human Milk Microbiome: From Actual Knowledge to Future Perspective. **Seminars in Perinatology**, vol. 45, no. 6, Out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2021.151450>

SINGH, R. K.; et al. Influence of Diet on the Gut Microbiome and Implications for Human Health. **Journal of Translational Medicine**, vol. 15, no. 1, Abr. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>

SHAPIRA, Dana; et al. The Effect of Gestational Diabetes Mellitus on Human Milk Macronutrients Content. **Journal of Perinatology**, vol. 39, no. 6, Mar. 2019, pp. 820 - 823. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0362-5>

SULLIVAN, S.; et al. An Exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. **The Journal of Pediatrics**, vol. 156, no. 4, Abr. 2010, pp. 562 - 567.e1. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.10.040>

SUWAYDI, M. A.; et al. The Impact of Gestational Diabetes Mellitus on Human Milk Metabolic Hormones: A Systematic Review. **Nutrients**, vol. 14, no. 17, Set. 2022, pp. 3620 - 3620. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14173620>

TOGO, Amadou; et al. Repertoire of Human Breast and Milk Microbiota: A Systematic Review. **Future Microbiology**, vol. 14, 26 Abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0317>

TURNBAUGH, P. J.; et al. An Obesity-Associated Gut Microbiome with Increased Capacity for Energy Harvest. **Nature**, vol. 444, no. 7122, Dez. 2006, pp. 1027 - 1031. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature05414>

VICTORA, C. G; et al. Breastfeeding in the 21st Century: Epidemiology, Mechanisms, and Lifelong Effect. **The Lancet**, vol. 387, no. 10017, jan. 2016, pp. 475 - 490. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)01024-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)01024-7)

VOHR, Betty; et al. Age Care Unit on Outcomes of Extremely Low Birth Weight Infants at 30 Months of Persistent Beneficial Effects of Breast Milk Ingested in the Neonatal Intensive. **Pediatrics**, vol. 120, no. 4, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2006-3227>

WANG, Mei; et al. Fecal Microbiota Composition of Breast-Fed Infants Is Correlated with Human Milk Oligosaccharides Consumed. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, vol. 60, no. 6, Jun. 2015, pp. 825 - 833. DOI: <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000000752>

WILLIAMS, J. E.; et al. Human Milk Microbial Community Structure Is Relatively Stable and Related to Variations in Macronutrient and Micronutrient Intakes in Healthy Lactating Women. **The Journal of nutrition**, vol. 147, n. 9, set. 2017, pp. 1739 - 1748. DOI: <https://doi.org/10.3945/jn.117.248864>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Geneva: **WHO**, fev. de 2002. Disponível em < <https://www.who.int/publications/i/item/9241562110> >. Acesso em 10 de nov. de 2023.

YU, Xinting; et al. Associations of Breast Milk Adiponectin, Leptin, Insulin and Ghrelin with Maternal Characteristics and Early Infant Growth: A Longitudinal Study. **British Journal of Nutrition**, vol. 120, no. 12, Dez. 2018, pp. 1380 - 1387. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114518002933>

ZIMMERMANN, Petra; CURTIS, Nigel. Breast Milk Microbiota: A Review of the Factors That Influence Composition. **Journal of Infection**, vol. 81, no. 1, Jul. 2020, pp. 17–47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.01.023>

Tabela 1 - Estrutura da questão principal da revisão sistemática: PECO (População, Exposição, Comparadores e Desfechos) (MORGAN *et al*, 2019), Tipos de Estudos Incluídos e Critérios para Inclusão e Exclusão dos estudos.

	Critérios de Inclusão	Critérios de exclusão
População	Lactantes/Nutrizes/Puérperas	Mulheres no pós-parto que não estão amamentando
Exposição	Exposição à obesidade pré-gestacional ou atual (IMC \geq 30 Kg/m ²) e/ou ao diagnóstico de diabetes mellitus gestacional ou diabetes prévio	-
Comparador	Lactantes não expostas à obesidade pré-gestacional ou atual (IMC \geq 30 Kg/m ²) Lactantes não expostas ao diabetes mellitus gestacional	Estudos que não incluem na análise IMC materno categorizado como obesidade (IMC \geq 30 Kg/m ²) e/ou diagnóstico de DMG ou DM prévio
Desfecho	Alterações na variedade e/ou composição do microbioma do leite humano	Estudos que não avaliam microbioma do leite humano
Tipos de Estudos Incluídos	Estudos observacionais, transversais, longitudinais, caso-controle e coorte.	Estudos de caso, editoriais e notas, resumos de congresso, ensaio clínico randomizado, estudos quasi-experimentais, estudos experimentais.

Tabela 2 - Estratégia de busca nas bases de dados

<p>Pubmed</p>	<p>(Diabetes, Gestational[mh] OR Obesity, Maternal[mh] OR Gestational diabet*[tiab] OR Diabetes Mellitus, Type 2[mh] OR NIDDM[tiab] OR MODY[tiab] OR Glucose Tolerance Test[mh] OR Hyperglycemia[mh] OR Glucose Intolerance[mh] OR Glucose Metabolism Disorders[mh:noexp] OR Glucose Toleran*[tiab] OR Hyperglycemi*[tiab] OR Glucose Intoleran*[tiab] OR Glucose Metabol*[tiab] OR ((Ketosis-Resistant[tiab] OR Type II[tiab] OR Maturity-Onset[tiab] OR Slow-Onset[tiab] OR Type 2[tiab] OR Noninsulin-Dependent[tiab] OR Insulin-independent[tiab] OR Adult-Onset[tiab]) AND Diabet*[tiab]) OR Gestational Weight Gain[mh] OR Maternal obesit*[tiab] OR gestational bmi[tiab] OR gestational body mass index[tiab] OR pre pregnancy BMI[tiab] OR pre pregnancy body mass index[tiab] OR Nutritional Status[mh] OR Nutritional status[tiab]) AND (Milk, Human[mh] OR Lactation[mh] OR Breast Feeding[mh] OR Human Milk[tiab] OR Breast Milk[tiab] OR Lactation*[tiab] OR Lactating[tiab] OR Breastfed[tiab] OR Breastfeed*[tiab] OR Breast Fed[tiab] OR Breast feed*[tiab] OR Breast Milk Expression[mh] OR Breastmilk[tiab] OR "Mother milk"[tiab:~2] OR "Mothers milk"[tiab:~2] OR "Mother's milk"[tiab:~2] OR ((Woman[tiab] OR Women[tiab] OR Collect*[tiab] OR Express*[tiab] OR Maternal*[tiab]) AND milk[tiab])) AND (Microbiota[mh:noexp] OR "Milk, Human/microbiology"[mh] OR Microbiota[tiab] OR Microbiome*[tiab] OR Microb*[tiab] OR Bacterial communit*[tiab] OR Microbial communit*[tiab] OR RNA, Ribosomal, 16S[mh] OR (16S[tiab] AND (rRNA[tiab] OR ribosom*[tiab])) OR Sequence Analysis, DNA[mh] OR (sequenc*[tiab] AND (analys*[tiab] OR analyz*[tiab] OR dna[tiab] OR typing[tiab] OR genom*[tiab])) OR DNA, Bacterial[mh] OR Bacteria[mh] OR bacteri*[tiab] OR flora[tiab] OR microflora[tiab] OR micro organism*[tiab] OR microorganism*[tiab] OR microbiology[sh] OR next generation sequencing[tiab] OR next gen sequencing[tiab] OR high throughput sequencing[tiab] OR High-Throughput Nucleotide Sequencing[mh] OR metaxonom*[tiab] OR Metagenome[mh] OR metagenom*[tiab] OR ngs[tiab] OR hts[tiab] OR polymerase chain reaction[tiab] OR pcr[tiab] OR qPCR[tiab] OR Polymerase Chain Reaction[mh] OR "Gel electrophoresis"[tiab:~1] OR Sanger sequencing[tiab]) NOT (Animals[mh] NOT (Animals[mh] AND Humans[mh]))</p>
<p>Web Of Science</p>	<p>TS=("hyperglycemia" OR "gestational weight gain" OR "Gestational diabet*" OR "NIDDM" OR "MODY" OR "Glucose Toleran*" OR "Hyperglycemi*" OR "Glucose Intoleran*" OR "Glucose Metabol*" OR (("Ketosis-Resistant" OR "Type II" OR "Maturity-Onset" OR "Slow-Onset" OR "Type 2" OR "Noninsulin-Dependent" OR "Insulin-independent" OR "Adult-Onset") AND "Diabet*") OR "Maternal obesit*" OR "gestational bmi" OR "gestational body mass index" OR "pre pregnancy BMI" OR "pre pregnancy body mass index" OR "Nutritional status") AND TS=("Human Milk" OR "Breast Milk" OR "Lactation*" OR "Lactating" OR "Breastfed" OR "Breastfeed*" OR "Breast Fed" OR "Breast feed*" OR "Breastmilk" OR (Mother* NEAR/2 milk) OR (("Woman" OR "Women" OR "Collect*" OR "Express*" OR "Maternal*") AND "milk")) AND TS=("Microbiota" OR "Microbiome*" OR "Microb*" OR "Bacterial communit*" OR "Microbial communit*" OR ("16S" AND ("rRNA" OR "ribosom*")) OR ("sequenc*" AND ("analys*" OR "analyz*" OR "dna" OR "typing" OR "genom*")) OR "bacteri*" OR "flora" OR "microflora" OR "micro organism*" OR "microorganism*" OR "next generation sequencing" OR "next gen sequencing" OR "high throughput sequencing" OR "metaxonom*" OR "metagenom*" OR "ngs" OR "hts" OR "polymerase chain reaction" OR "pcr" OR "qPCR" OR (Gel NEAR/1 electrophoresis) OR "Sanger sequencing")</p>

<p>Embase</p>	<p>('gestational diabetes'/exp OR 'maternal obesity'/exp OR 'non insulin dependent diabetes mellitus'/exp OR 'glucose tolerance test'/exp OR 'hyperglycemia'/exp OR 'glucose intolerance'/exp OR 'disorders of carbohydrate metabolism'/de OR 'gestational weight gain'/exp OR 'nutritional status'/exp OR ('Gestational diabet*' OR 'NIDDM' OR 'MODY' OR 'Glucose Toleran*' OR 'Hyperglycemi*' OR 'Glucose Intoleran*' OR 'Glucose Metabol*'):ti,ab,kw OR (('Ketosis-Resistant' OR 'Type II' OR 'Maturity-Onset' OR 'Slow-Onset' OR 'Type 2' OR 'Noninsulin-Dependent' OR 'Insulin-independent' OR 'Adult-Onset'):ti,ab,kw AND 'Diabet*':ti,ab,kw) OR ('Maternal obesit*' OR 'gestational bmi' OR 'gestational body mass index' OR 'pre pregnancy BMI' OR 'pre pregnancy body mass index' OR 'Nutritional status'):ti,ab,kw) AND ('breast milk'/exp OR 'lactation'/exp OR 'breast feeding'/exp OR ('Human Milk' OR 'Breast Milk' OR 'Lactation*' OR 'Lactating' OR 'Breastfed' OR 'Breastfeed*' OR 'Breast Fed' OR 'Breast feed*' OR 'Breastmilk'):ti,ab,kw OR (Mother* NEXT/2 milk):ti,ab,kw OR (('Woman' OR 'Women' OR 'Collect*' OR 'Express*' OR 'Maternal*'):ti,ab,kw AND 'milk':ti,ab,kw)) AND ('microbiome'/exp OR 'microbiology'/exp OR 'RNA 16S'/exp OR 'DNA sequencing'/exp OR 'bacterial DNA'/exp OR 'bacterium'/exp OR 'high throughput sequencing'/exp OR 'metagenome'/exp OR 'polymerase chain reaction'/exp OR ('Microbiota' OR 'Microbiome*' OR 'Microb*' OR 'Bacterial communit*' OR 'Microbial communit*'):ti,ab,kw OR ('16S':ti,ab,kw AND ('rRNA' OR 'ribosom*'):ti,ab,kw) OR ('sequenc*':ti,ab,kw AND ('analys*' OR 'analyz*' OR 'dna' OR 'typing' OR 'genom*'):ti,ab,kw) OR ('bacteri*' OR 'flora' OR 'microflora' OR 'micro organism*' OR 'microorganism*' OR 'next generation sequencing' OR 'next gen sequencing' OR 'high throughput sequencing' OR 'metaxonom*' OR 'metagenom*' OR 'ngs' OR 'hts' OR 'polymerase chain reaction' OR 'pcr' OR 'qPCR'):ti,ab,kw OR (Gel NEXT/1 electrophoresis):ti,ab,kw OR 'Sanger sequencing':ti,ab,kw) NOT ([animals]/lim NOT [humans]/lim) AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim)</p>
---------------	--

ANEXOS

Anexo 1: Checklist PRISMA (2020) para realização de revisões sistemáticas

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	

Anexo 1 (continuação): Checklist PRISMA (2020) para realização de revisões sistemáticas

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	