

Maria Tereza Ferreira Duenhas Monreal

**Microbiota intestinal em pacientes com
infecções bacterianas do trato respiratório
tratados com amoxicilina**

Maria Tereza Ferreira Duenhas Monreal

**Microbiota intestinal em pacientes com
infecções bacterianas do trato respiratório
tratados com amoxicilina**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP, para obtenção do Título de Doutor em Doenças Tropicais (Modalidade: Biologia Tropical).

Orientador: *Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira*

Botucatu-SP
2003

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA
INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Monreal, Maria Tereza Ferreira Duenhas.

Microbiota intestinal em pacientes com infecções bacterianas do trato respiratório tratados com amoxicilina / Maria Tereza Ferreira Duenhas Monreal. – 2003.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2003.

Orientador: Paulo Câmara Marques Pereira

Assunto CAPES: 40101096

1. Microrganismos - Efeito das drogas 2. Aparelho respiratório –
Doenças - Tratamento CDD 616.01
CDD 616.2

Palavras-chave: Microbiota intestinal; Amoxicilina; *Bifidobacterium*;
Bacteroides; *Lactobacillus*

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho envolveu a participação direta ou indireta de muitas pessoas.

Manifesto minha gratidão a todas elas e de forma particular:

Ao meu esposo Antonio Carlos, por estimular, apoiar, confiar e acreditar que seria possível, sem essa ajuda não teria chegado até aqui;

À minha filha Marília (14), que me auxiliou fotografando a parte laboratorial, cujas fotos apresento neste trabalho, minha companheira;

À minha filha Vitória (8), por não dificultar a realização deste, compreendendo a importância do mesmo para as nossas vidas, a minha vitória;

Aos meus pais, Terezinha e Augusto, pela oportunidade de estudar, minha gratidão sempre;

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira, por aceitar esta orientação, pelo estímulo e apoio, acreditando sempre no meu trabalho, meu agradecimento, consideração, respeito e amizade;

Aos professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, pela liberação para que eu pudesse realizar este trabalho;

À Prof^a MSc. Zildete Barbosa de Araújo Yonamine e Prof. MSc. Joaquim Dias da Mota Longo, ambos do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, por assumirem disciplinas que estavam sob minha responsabilidade, viabilizando minha liberação, consideração sempre;

Aos pacientes com infecções bacterianas do trato respiratório, atendidos no Pronto Atendimento do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, por participarem deste estudo, pelo aprendizado e crescimento;

Aos indivíduos do grupo controle atendidos no Hemocentro do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, por compreenderem a importância deste estudo e participarem do mesmo;

Ao Dr. Fábio Cardoso Iuvan, Diretor Técnico do Hemocentro do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, por viabilizar a realização de parte deste estudo (In memorian);

À Dra Lucilene S. R. e Resende, Responsável pelo Laboratório de Hematologia do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - Divisão Hemocentro, pela realização dos hemogramas e por facilitar o acesso aos resultados;

À Dra. Maria Eloísa Moura de Camargo, Supervisora da Seção Médica, por permitir a realização deste estudo com os pacientes do Pronto Atendimento do Hospital de Clínicas da Faculdade de medicina de Botucatu;

Aos médicos do Pronto Atendimento do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Dr. Adriano Visconti Fachin, Dra. Alice Aparecida Frison, Dr. Alexandre Taborda, Dr. André Luís S. Diacardia, Dr. Durval Ferreira, Dra. Elaine Farah Simões, Dra. Eloísa Bueno Pires de Campos, Dr. Jansen M. Furlan, Dra. Patrícia M. Toledo dos Santos, Dra. Suzana E. Tanni, Dra Viviane A. Capelluppi, que compreenderam a importância deste estudo, pelo envolvimento, respeito e amizade, muitas saudades;

Às funcionárias do Pronto Atendimento do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Maria de Fátima Pinheiro de Lalla, Auxiliar de Serviços Gerais, e

Teresa Cristina Gondin, Auxiliar de Enfermagem, por permitirem acesso às fichas dos pacientes e por facilitarem a realização das entrevistas;

Ao Técnico de Laboratório, Benedito Antonio Placidelli, pela gentileza em preparar alguns meios de cultura utilizados neste estudo;

Ao Técnico de Laboratório, Pedro Miguel Oyan Filho por apoiar, orientar e realizar procedimentos laboratoriais imprescindíveis neste estudo, meus sinceros agradecimentos;

Ao Técnico de Laboratório Isaltino Onório de Oliveira por apoiar sempre;

Aos Auxiliares de Enfermagem Carlos Martins e Maria Pedrina Ribeiro, por estimular, incentivar e realizar a coleta de sangue dos pacientes deste estudo, sempre com muita dedicação e simpatia, obrigada pelo aprendizado e pela energia;

Ao meu amigo Carlos Roberto Gonçalves de Lima, Auxiliar Acadêmico, que durante a execução desta pesquisa proporcionou todas as condições necessárias para o desenvolvimento da mesma, minha gratidão;

Ao Nutricionista Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade pelas referências bibliográficas e informações;

À Nutricionista Juliana Geraix por apoiar o desenvolvimento do conteúdo nutricional deste estudo;

À minha amiga Nutricionista Clisia Mara Careira, que além do conhecimento técnico relativo à sua atividade profissional me ofereceu amizade incondicional durante o período em que estive nesta maravilhosa Botucatu, minha eterna gratidão;

À Daniela Vanessa Moris, pós-graduanda, pela companhia e por apoiar a execução deste estudo no Laboratório de Doenças Tropicais;

À Bióloga Sueli Aparecida Calvi, por fazer as solicitações dos meios de cultura e de todos os materiais utilizados neste estudo, sempre de forma responsável e profissional;

Aos amigos que conquistei durante este período, Daniela Mazza, Rudson, Socorro, Rodrigo Oliveira e Alberto (in memorian), já fazem parte da minha história;

Ao amigo Hebert Almeida Merezes, por solidariamente me socorrer nos momentos mais difíceis;

Aos colegas de pós-graduação com quem passei muitas e divertidas horas durante o desenvolver das disciplinas;

Aos inesquecíveis professores Dra. Jussara Marcondes Machado e Dr. Domingos Alves Meira, com os quais tive a honra de conviver neste período importante da minha vida, pelo aprendizado teórico indiscutível, pelas experiências e lições de vida, meus sinceros agradecimentos;

À Prof^a Dra. Maria Terezinha Serrão Peraçoli, pela amizade, carinho, e pelas longas conversas;

À Rosemary Cristina da Silva, Bibliotecária da Universidade Estadual de São Paulo/Botucatu, pelas correções e adequações nas referências bibliográficas deste estudo, pela amizade, respeito e gentileza;

À Selma Maria de Jesus, Bibliotecária da Universidade Estadual Paulista/Botucatu, por fazer a Ficha Catalográfica deste trabalho;

À amiga Regina Célia Spadin da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP, por todas as orientações recebidas e pela simpatia no atendimento;

Ao Prof. MSc Daniel Derrel Santee, do Departamento de Letras da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por fazer a versão do resumo para o inglês, meu respeito e consideração;

Aos amigos que nos acolheram, Rosa, Márcio, Juninho, Amanda, Alexandre, Cari, Cristina, Ronaldo, Ronaldinho, Daniel, Belmira, Benedito, Fábio e Eduardo;

Às amigas de sempre Adriana Goya e sua mãe Adélia, que sempre me estimularam e apoiaram, vocês são a minha família em Botucatu, minha estima e consideração sempre;

“Não julgue pequena demais sua tarefa.
Nenhuma obra de arte pode descurar dos pormenores.
Se as minúcias forem perfeitas, é que podemos denominar
alguma coisa de obra-prima.
Não busque tarefas grandiosas e de evidência.
Procure dar conta integralmente do serviço pequenino
que lhe foi confiado.
Da perfeição com que o executar dependerá sua oportunidade
para receber uma incumbência maior.”

C. Torres Pastorino

Minutos de Sabedoria

1997.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	x
Lista de Figuras.....	xi
Resumo.....	xii
Abstract.....	xiii
1 Introdução.....	1
Objetivos.....	9
2 Casuística e Métodos.....	10
3 Resultados.....	28
4 Discussão.....	52
5 Considerações Finais.....	62
6 Referências Bibliográficas.....	64
Anexos.....	79
Apêndices.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o hábito de fumar. Botucatu-SP, 2002.	31
Tabela 2	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o hábito de ingerir bebidas alcoólicas. Botucatu-SP, 2002.	32
Tabela 3	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo renda familiar. Botucatu-SP, 2002.	33
Tabela 4	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o número de membros na família. Botucatu-SP, 2002.	34
Tabela 5	Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de <i>Bacteroides</i> no grupo controle- GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório- G1, nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.	41
Tabela 6	Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de <i>Bifidobacterim</i> no grupo controle- GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório- G1, nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.	44
Tabela 7	Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de <i>Lacto bacillus</i> no grupo controle- GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório- G1, nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com o sexo. Botucatu-SP, 2002.	29
Figura 2	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com faixas etárias. Botucatu-SP, 2002.	30
Figura 3	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o grau de escolaridade dos chefes de família. Botucatu-SP, 2002.	35
Figura 4	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com a profissão do chefe da família. Botucatu-SP, 2002.	36
Figura 5	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com a condição da habitação. Botucatu-SP, 2002.	37
Figura 6	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo a classe sócio-econômica. Botucatu-SP, 2002.	38
Figura 7	Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo diagnóstico nutricional, baseado no cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC). Botucatu-SP, 2002.	39
Figura 8	Média do Log_{10} da contagem de UFC/g de fezes de <i>Bacteroides</i> nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.	42
Figura 9	Média do Log_{10} da contagem de UFC/g de fezes de <i>Bifidobacterium</i> nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.	45
Figura 10	Média do Log_{10} da contagem de UFC/g de fezes de <i>Lactobacillus</i> nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.	48
Figura 11	Média do Log_{10} da contagem de UFC/g de fezes de <i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.	50

Monreal MTFD. Microbiota intestinal em pacientes com infecções bacterianas do trato respiratório tratados com amoxicilina - Tese (doutorado). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2003.

Resumo

O trato gastrointestinal possui enorme variedade de bactérias aeróbias e anaeróbias, metabolicamente ativas, que interagem entre si em complexo ecossistema. Essa microbiota desempenha funções importantes no metabolismo, nutrição, imunidade e proteção contra a colonização por microrganismos patogênicos. Vários fatores podem influenciar essa microbiota, entre eles a idade, dieta, processos inflamatórios e infecciosos e utilização de antimicrobianos. Assim, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de verificar a influência das infecções bacterianas do trato respiratório e do tratamento com amoxicilina sobre a microbiota intestinal normal do paciente. O processo infeccioso bacteriano do trato respiratório influenciou a microbiota intestinal dos pacientes. Houve redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de microrganismos dos gêneros *Bacteroides* e *Lactobacillus*. A utilização de amoxicilina também influenciou a microbiota intestinal. Foi observada redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de microrganismos dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. É importante identificar modificações na composição da microbiota intestinal, uma vez que a diminuição destes microrganismos pode representar diversos prejuízos para o hospedeiro. Um destes prejuízos é a diminuição da resistência à colonização. Esses prejuízos, quando acompanhados, podem ser minimizados pela equipe de saúde por meio de medidas relativas à conduta terapêutica e alimentar, visando reduzir a influência nociva sobre o ecossistema gastrointestinal.

Palavras-chave: microbiota intestinal, amoxicilina, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*

Monreal MTFD. Intestinal Microbiota in patients with bacterial infections of the respiratory tract treated with amoxicillin - Thesis (doctorate). Botucatu School of Medicine, Paulista State University, 2003.

Abstract

The gastrointestinal tract contains an enormous variety of metabolically active aerobic and anaerobic bacteria, that interact with each other in a complex ecosystem. That microbiota carries out important functions in the metabolism, nutrition, immunity and protection against the colonization by pathogenic microorganisms. Several factors can influence this microbiota, among them are age, diet, inflammatory and infectious processes and use of antimicrobial agents. Thus, this study was developed with the objective of verifying the influence of the bacterial infections of the respiratory tract and of the treatment using amoxicillin on the patient's normal intestinal microbiota. The bacterial infectious process of the respiratory tract influenced the patients' intestinal microbiota. There was significant reduction in the amount of CFU/g of feces of microorganisms of the *Bacteroides* and *Lactobacillus* genus. The use of amoxicillin also influenced the intestinal microbiota. Significant reduction was observed in the amount of CFU/g of feces of microorganisms of the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* genus. It is important to identify modifications in the composition of the intestinal microbiota, once the decrease of these microorganisms can cause damage to the host. One of these damages is the decrease in the resistance to the colonization. Those damages, when accompanied, can be minimized by the health staff using measures related to the therapeutic and alimentary conduct, seeking to reduce the noxious influence on the gastrointestinal ecosystem.

Keywords: intestinal microbiota, amoxicillin, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*

Introdução

INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal possui enorme variedade de bactérias aeróbias e anaeróbias, que interagem entre si em complexo ecossistema ⁽¹⁾. Essa microflora é composta por 400 a 500 espécies diferentes de bactérias metabolicamente ativas, com impacto marcante sobre a função intestinal e a saúde do hospedeiro ^(2,3). No cólon sua concentração varia de 10^{10} a 10^{12} UFC (Unidade Formadora de Colônia) por grama de fezes ⁽⁴⁻⁷⁾, e essa densidade populacional é regulada pelas interações que ocorrem entre a microflora ⁽⁸⁻¹⁰⁾ (Figura 1).

NORMAL FLORA OF THE GASTROINTESTINAL TRACT		
Density	Frequency of occurrence in population	
Mouth	<i>Bacteroides</i> spp. <i>Eubacterium</i> spp. <i>Viridans streptococci</i> <i>Streptococcus</i> spp.	
Esophagus	Lactobacilli	
Stomach		
Small bowel	Lactobacilli Streptococci	
Duodenum		
Jejunum	Enterobacteria <i>Bacteroides</i> spp.	
Ileum		
Large bowel	<i>Bacteroides</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. Eubacteria Bifidobacteria
	Lactobacillus <i>Staph. aureus</i> <i>Clostridium</i> spp.	Streptococci <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Salmonella</i> spp.
Fecal material	<i>Bacteroides</i> spp. Bifidobacteria Eubacteria	Coliforms <i>Enterococcus faecalis</i>

Figura 1: Flora normal do trato gastrointestinal (Fonte: Armstrong & Cohen ⁽¹¹⁾)

A formação da microflora intestinal normal tem início ao nascimento, quando o recém-nascido é exposto aos microrganismos do trato geniturinário da mãe ⁽⁷⁾. Durante os primeiros dias de vida, *Escherichia coli*, *Clostridium* e estreptococos colonizam o trato

intestinal ⁽⁴⁾. Com a amamentação (leite materno) surgem as bifidobactérias e os lactobacilos. Logo em seguida, aparecem os bacteróides, eubactérias e peptococos ^(4,12) (Figura 2).

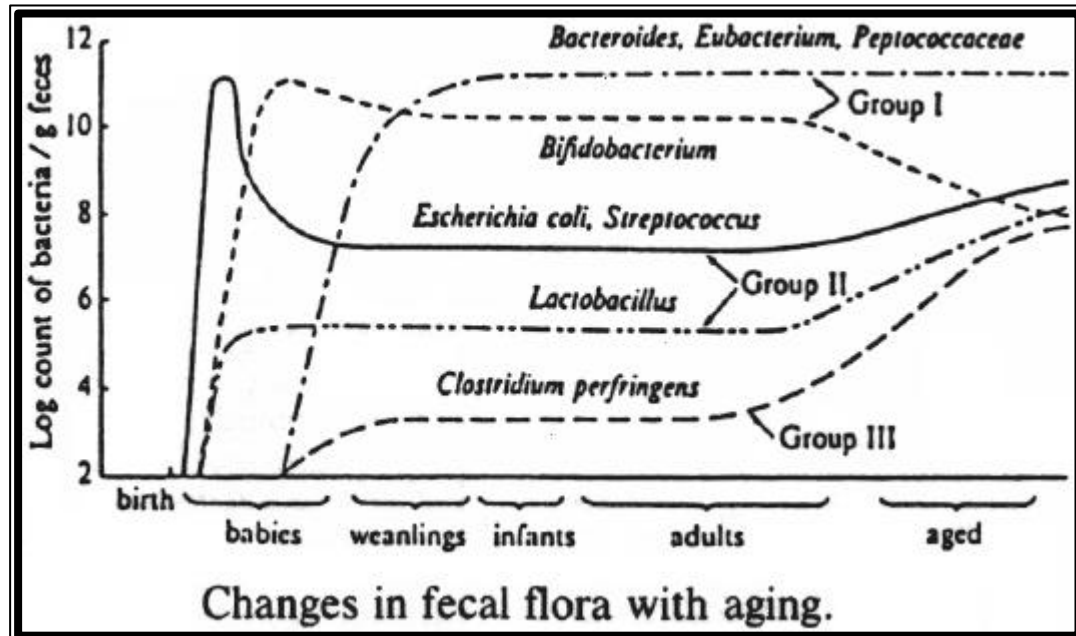


Figura 2: Mudanças na flora fecal com o envelhecimento (Fonte: Mitsuoka⁽¹²⁾)

De acordo com alguns autores, o perfil dominante das bactérias anaeróbias, usualmente encontrado em indivíduos adultos, é estabelecido nos primeiros quatro anos de vida ⁽¹³⁾. Outros consideram que esse perfil se estabelece a partir dos dois anos de idade ⁽¹⁴⁾.

O intestino grosso (cólon) é o primeiro local de colonização microbiana nos humanos, provavelmente devido à pequena motilidade intestinal ⁽³⁾.

No geral as bactérias intestinais podem ser divididas em espécies que exercem efeitos prejudiciais ao hospedeiro e espécies que exercem efeitos benéficos. Entre os efeitos nocivos, podem ser citados diarreia, infecções, danos hepáticos, carcinogênese e putrefação intestinal. A inibição do crescimento de bactérias prejudiciais, estimulação do sistema imune, melhora da digestão e da absorção de nutrientes essenciais e a síntese de vitaminas,

são exemplos de efeitos protetores desenvolvidos pela microbiota intestinal ⁽¹⁴⁾. Entre os grupos predominantes de bactérias colônicas, os *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são gêneros que desempenham efeitos benéficos para o hospedeiro. Microrganismos do gênero *Bacteroides* são capazes de desempenhar ações benéficas e prejudiciais ⁽¹⁵⁾. De acordo com Macfarlane e colaboradores ⁽¹⁶⁾ essas bactérias são encontradas em elevadas concentrações no intestino grosso (Quadro 1).

Quadro 1: Concentração de bactérias no intestino grosso humano ⁽¹⁶⁾.

Bactérias	Concentração (Log ₁₀ /g de Fezes)	
	Média	Variação
Bacteróides	11,3	9,2 – 13,5
Bifidobactérias	10,2	4,9 – 13,4
Lactobacilos	9,6	3,6 – 12,5

As bactérias intestinais têm participação importante na formação da massa fecal, frequência de evacuações, regulação do pH colônico, produção de ácidos graxos de cadeia curta e armazenamento de energia proveniente de componentes alimentares não digeridos no intestino delgado ⁽¹⁵⁾. O metabolismo, a nutrição, a imunidade e a proteção são as principais funções da microbiota intestinal ^(7,17). Uma das funções metabólicas é a fermentação de substratos alimentares não digeridos no intestino delgado e de mucos endógenos ⁽¹⁷⁾. Os açúcares são fermentados em vários produtos, incluindo ácidos, álcoois e gases ^(18,19). Os principais produtos são os ácidos graxos de cadeia curta: acético, propiônico e butírico ⁽²⁰⁾. A maior parte desses ácidos é absorvida pelo intestino e, subsequentemente utilizada pelo hospedeiro em inúmeras vias metabólicas ^(18,21). As mucinas são constantemente secretadas pelo trato gastrointestinal ⁽²²⁾. Essas glicoproteínas formam uma eficiente barreira física contra a invasão e colonização ⁽²¹⁾. Algumas espécies de bactérias

como bacteróides, bifidobactérias e ruminococos são capazes de utilizar a mucina como fonte de carbono e energia, reduzindo assim, seu efeito protetor. Porém, existe balanço constante entre a secreção de mucina pelo hospedeiro e sua utilização pela microflora ⁽²³⁾.

A microflora intestinal também atua no metabolismo de ácidos biliares primários e hormônios esteróides, fazem a conversão da urobilina para urobilinogênio e do colesterol para coprostanol ^(5,24).

A ação de nutrição da microflora é exercida através dos produtos da fermentação, principalmente os ácidos graxos de cadeia curta e o ácido lático. O ácido butírico serve como substrato de energia para os colonócitos; o propiônico e o lático para as células do fígado; o acético para os tecidos periféricos ⁽¹⁸⁾. Alguns destes, podem funcionar como moduladores do metabolismo da glicose e lipídeos. Os ácidos graxos de cadeia curta podem ainda estimular a absorção de cálcio, magnésio e ferro ⁽¹⁷⁾.

O intestino humano representa a maior massa de tecido linfóide do corpo. Após o nascimento as bactérias colonizam o intestino e, provavelmente atuam como fonte de antígenos e imunomoduladores inespecíficos. Essas bactérias podem ser consideradas como antígenos capazes de estimular resposta imune local e sistêmica. Elas influenciam o número e a distribuição da população de células do tecido linfóide associado ao intestino. Além disso, determinadas bactérias gram-negativas como *E. coli* e *Bacteroides* têm importante função sobre o efeito imunológico inespecífico ⁽²⁵⁾.

Uma das funções mais importantes da microflora é a proteção contra a colonização por microrganismos potencialmente patogênicos – ‘resistência à colonização’; e os anaeróbios são os principais microrganismos envolvidos nesse processo ⁽²⁶⁾. Essa resistência está relacionada à competição por substratos e sítios de colonização e a produção de ácidos orgânicos, que inibem o crescimento de muitos patógenos ⁽²³⁾. Algumas espécies de

bactérias são capazes de produzir ‘bacteriocinas’, substâncias semelhantes a antibióticos, que inibem o crescimento bacteriano de algumas espécies e, exercem efeito auto-regulador sobre as espécies produtoras ⁽²⁷⁾.

Embora a microflora gastrointestinal seja relativamente estável durante a vida do indivíduo ⁽²⁸⁾, alguns fatores como doença e determinados medicamentos podem afetar esse equilíbrio ⁽¹²⁾. Esse ecossistema também pode ser influenciado pela dieta, localização geográfica, cirurgias do trato gastrointestinal e principalmente, durante o uso de antibiótico ⁽²⁹⁾. A administração de antibiótico pode influenciar a composição da microflora colônica, e essa influência depende da concentração da droga no lúmen intestinal e de seu espectro de ação ^(10,30,31). Essas drogas podem provocar distúrbio no balanço ecológico da microflora gastrointestinal com vários efeitos indesejáveis, como a colonização por patógenos potenciais, além de influenciar a atividade metabólica da microflora intestinal ^(5,32).

Muitos estudos têm sido conduzidos, com o objetivo de verificar modificações na composição da microflora intestinal, em decorrência de dietas ^(1,2,14,33-36), idade ^(12,37), localização geográfica ^(7,38,39), terapias medicamentosas ^(40,41) e doenças entéricas ^(31,42).

Nos últimos anos, alguns estudos têm procurado demonstrar a importância e participação da flora intestinal em determinados processos patológicos como artrite reumatóide e doença atópica ⁽⁴³⁻⁴⁸⁾. Essas pesquisas visam minimizar os sintomas e as conseqüências do processo inflamatório para o paciente.

As infecções do trato respiratório também têm despertado o interesse dos pesquisadores, pois são as infecções mais encontradas na prática médica geral, nas quais os antibióticos são rotineiramente prescritos. A administração de antibióticos pode provocar mudanças na flora normal da orofaringe e dos intestinos. Após terapia antimicrobiana pode ocorrer redução no número de microrganismos que habitam normalmente o trato

gastrointestinal, permitindo o crescimento excessivo de espécies bacterianas já presentes e, conseqüente colonização por microrganismos potencialmente patogênicos. O uso de antibióticos também pode promover o desenvolvimento de resistência ao antimicrobiano e assim, a bactéria resistente pode ser disseminada no meio ambiente ⁽⁴⁹⁾.

Entre as infecções do trato respiratório, o diagnóstico e o tratamento das sinusites, representam um grande problema para o clínico. As características clássicas como febre, secreção nasal purulenta e dor facial, podem estar ausentes; o que, freqüentemente dificulta a diferenciação entre infecção viral e infecção bacteriana, que requer tratamento com antimicrobiano. O diagnóstico pode ser auxiliado por radiografia dos seios da face (mais utilizado), ultra-sonografia, tomografia axial computadorizada, ressonância magnética e endoscopia dos seios da face ⁽⁵⁰⁾. A pneumonia é outra infecção do trato respiratório, que pode manifestar-se em ambos os sexos e em todas as idades. É um processo infeccioso agudo do parênquima pulmonar, que freqüentemente prejudica as trocas gasosas. Tosse, dor torácica e excessiva produção de escarro, podem ser relatados pelo paciente ⁽⁵¹⁾.

O tratamento de primeira escolha para as infecções do trato respiratório é a amoxicilina (aminopenicilina); que é um antibiótico betalactâmico bactericida, muito utilizado na prática clínica, indicado principalmente quando as vias aéreas estão comprometidas ⁽⁵²⁾. Essa droga é usualmente utilizada para tratamento inicial de paciente com sinusite aguda, e nesse caso, a duração do tratamento é de 10 a 14 dias ⁽⁵⁰⁾. Ela também é utilizada para o tratamento de alguns tipos de pneumonias bacterianas, sendo administrada por um período de sete a 10 dias ⁽⁵¹⁾.

É de grande importância clínica, conhecer a influência dos agentes antimicrobianos, bem como as conseqüências de processos infecciosos, sobre o ecossistema gastrointestinal do paciente.

Uma vez que a microbiota intestinal tem participação no metabolismo, imunidade, nutrição e proteção e que a mesma pode ser modulada pela ingestão de alguns tipos de alimentos, essas pesquisas podem oferecer subsídios importantes na condução do tratamento e na dieta do paciente durante o processo infeccioso e na recuperação, minimizando os efeitos prejudiciais da doença e do tratamento sobre a microbiota intestinal do mesmo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

- Verificar a influência das infecções bacterianas do trato respiratório e do tratamento com amoxicilina, sobre a microbiota intestinal normal do paciente.

Para alcançar esse objetivo foram utilizadas amostras de fezes de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório coletadas em três momentos distintos:

Momento 1 (M₁): antes do paciente iniciar o tratamento com a amoxicilina;

Momento 2 (M₂): no último dia do tratamento com a amoxicilina que variou de 10 a 14 dias;

Momento 3 (M₃): 30 dias após o final do tratamento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Isolar e quantificar as bactérias anaeróbias intestinais dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em fezes de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório, nos Momentos M₁, M₂ e M₃.
- Avaliar a influência do processo infeccioso sobre a microbiota intestinal.
- Avaliar a influência do tratamento com amoxicilina sobre a microbiota intestinal.

Casuística e Métodos

CASUÍSTICA e MÉTODOS

1. CASUÍSTICA:

Foi realizado estudo prospectivo, envolvendo 22 pacientes com infecções bacterianas do trato respiratório (18 casos de sinusite, 04 casos de pneumonia), triados junto ao Pronto Atendimento do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-SP/ UNESP no período de julho de 2002 a janeiro de 2003; e 20 indivíduos doadores de sangue triados junto ao Hemocentro da mesma Instituição no mesmo período.

2. MÉTODOS:

2.1. Critérios de Inclusão: pacientes com diagnóstico epidemiológico, clínico e por imagem de doenças infecciosas bacterianas agudas, do aparelho respiratório; com prescrição de amoxicilina; de ambos os sexos; com idade superior a 18 anos e que não estavam utilizando medicamentos.

2.2. Critérios de Exclusão: gravidez, lactação, mulheres com desordens hormonais; indivíduos que apresentavam outras doenças de base e uso prévio de medicamentos, principalmente antimicrobianos, nos últimos 30 dias.

2.3. Grupos de Estudo

Os indivíduos foram distribuídos em dois grupos:

- **Grupo Controle (GC):** constituído por 20 indivíduos normais, doadores de sangue, de ambos os sexos e com idade superior a 18 anos, triados junto ao Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-

SP/UNESP. Estes indivíduos não apresentavam infecções respiratórias e não utilizavam antimicrobianos no momento da pesquisa e nos últimos 30 dias.

- **Grupo 1 (G1):** constituído por 22 pacientes, de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, com diagnóstico clínico, epidemiológico e por imagem de infecção bacteriana aguda do trato respiratório.

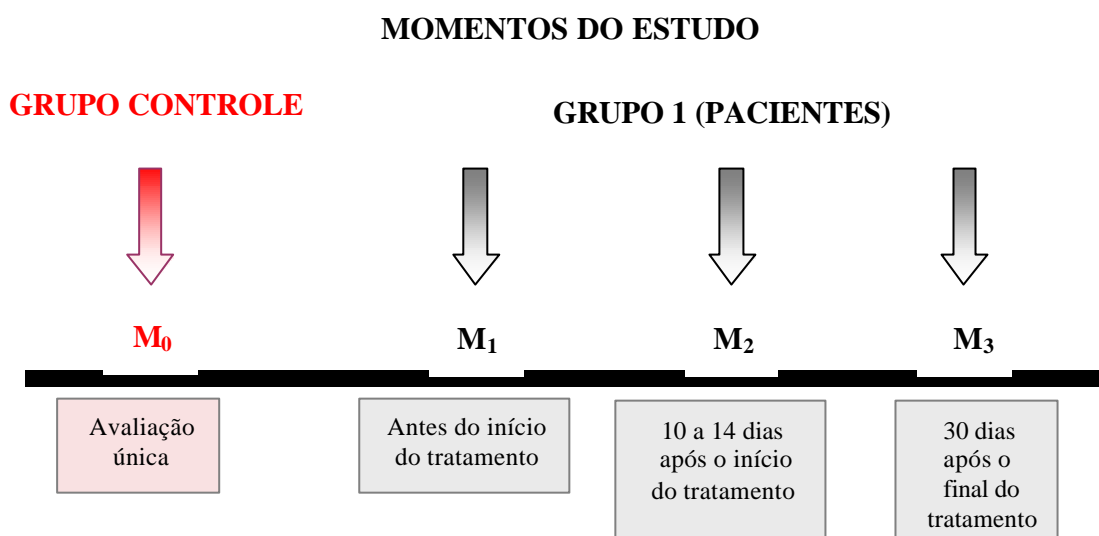
Foram fornecidos aos indivíduos dos Grupos GC e G1, os detalhes referentes à realização deste estudo e foi solicitado a cada um que assinasse o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Anexo 1), conforme Resolução nº 196/96 sobre “Pesquisa Envolvendo Seres Humanos”, do Conselho Nacional de Saúde/MS.

2.4. Momentos do Estudo

Para avaliação da microbiota intestinal dos indivíduos do grupo controle e dos pacientes foram utilizados os seguintes Momentos Experimentais:

- ✓ Momento Zero (M_0): cultura de fezes dos indivíduos do grupo controle para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada uma vez.
- ✓ Momento Um (M_1): cultura de fezes dos pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada antes dos mesmos iniciarem o tratamento com a amoxicilina.
- ✓ Momento Dois (M_2): cultura de fezes dos pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada no último dia do tratamento com a amoxicilina.

- ✓ Momento Três (M_3): cultura de fezes dos pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada 30 dias após o final do tratamento.



2.5. Diagnóstico das Infecções por Agentes Bacterianos

Todos os indivíduos do grupo G1 foram avaliados clinicamente pelos médicos do Pronto Atendimento.

O diagnóstico das infecções por microrganismos bacterianos foi baseado em dados clínicos, epidemiológicos e por exames complementares inespecíficos (hemograma completo e RX de tórax e/ou seios da face). O hemograma foi realizado pelo Laboratório de Hematologia da Divisão Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-SP/UNESP, em contador automático de células, Penta 120 ABX, de acordo com técnicas já padronizadas ⁽⁵³⁾ Foram considerados compatíveis com infecção bacteriana os hemogramas que apresentaram leucocitose. Enquanto os exames radiológicos, quando

necessários, foram realizados pelo Serviço de Radiologia da mesma Instituição e foram considerados indicativos de infecções bacterianas quando apresentaram velamento de seios da face, nos casos de sinusites e/ou revelaram condensação nos casos de pneumonias. Estes exames foram realizados antes dos pacientes iniciarem o tratamento com o antimicrobiano.

2.6. Tratamento

O tratamento destes pacientes foi estabelecido pelos médicos responsáveis pela assistência no Pronto Atendimento. Para o tratamento destas infecções, foi utilizado Amoxicilina de 500 mg, via oral, prescrita de 8/8 horas, por um período de 10 a 14 dias.

2.7. Características epidemiológicas (Anexo 2)

Os indivíduos dos dois grupos foram entrevistados em salas reservadas, pela autora do trabalho, e foram obtidas informações relativas ao sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool e medicamentos prescritos.

2.8. Inquérito para Classificação Sócio-econômica (Anexo 3)

Durante a entrevista também foram obtidas informações relativas à renda familiar, nº de membros na família, escolaridade, habitação e ocupação. Estas variáveis serviram como subsídio para a classificação sócio-econômica de cada indivíduo, de acordo com o proposto por Graciano, Lehfeld e Neves Filho ⁽⁵⁴⁾.

Quadro 1: Sistema de pontuação para classificação sócio-econômica ⁽⁵⁴⁾.

Pontos	Classificação	Sigla
0 ? 20	Baixa inferior	BI
20 ? 30	Baixa superior	BS
30 ? 40	Média inferior	MI
40 ? 47	Média	ME
47 ? 54	Média superior	MS
54 acima	Alta	AL

2.9. Avaliação Nutricional

A avaliação nutricional foi realizada com os indivíduos dos grupos GC e G1, pela aplicação de protocolo específico contendo aspectos dietéticos e antropométricos.

a) Para a análise da ingestão de alimentos dos indivíduos foi utilizado o registro alimentar de três dias, com descrição do horário das refeições e quantidade em medidas caseiras (colher, xícara, copo, prato) e/ou em gramas dos alimentos ingeridos, para verificar se no hábito alimentar do indivíduo havia ingestão de nutrientes que poderiam favorecer ou desfavorecer a microbiota intestinal (Anexo 4). Para os cálculos das calorias totais, dos carboidratos, das proteínas, dos lipídeos e outros nutrientes específicos foi utilizado o Software Virtual Nutri ⁽⁵⁵⁾, da Faculdade de Saúde Pública de São Paulo – USP.

b) Investigação Antropométrica: medição do peso e estatura (Anexo 5).

Peso (P) – Quilo (Kg) : foi obtido com a utilização de balança antropométrica, tipo plataforma com precisão de 0,1 Kg, com o paciente descalço e com o mínimo de vestimenta ^(56,57).

Estatura (E) – Metros (m) : foi determinada por meio de uma escala fixada na balança antropométrica, com precisão de 0,5 cm ^(56,57).

Índice de Massa Corporal (IMC): foi calculado a partir da relação peso (Kg) e estatura ao quadrado (m²) através da fórmula: $IMC = P/E^2$ ^(56,57).

Para classificação do estado nutricional dos indivíduos foi utilizado o Índice de Massa Corporal (IMC).

Quadro 2: Classificação Nutricional ⁽⁵⁸⁾.

Índice de Massa Corporal (Kg/M ²)	Classificação
= 16	Desnutrição Grau III (grave)
16,0 – 16,9	Desnutrição Grau II (moderada)
17,0 – 18,49	Desnutrição Grau I (leve)
18,5 – 24,9	Eutrofia
25,0 – 29,9	Pré-obeso
30,0 – 34,9	Obesidade Grau I
35,0 – 39,9	Obesidade Grau II
= 40	Obesidade Grau III

2.10. Avaliação da Microbiota Bacteriana Intestinal (Anexo 6):

Para a avaliação microbiológica da microbiota intestinal foi adaptado o método de Sutter e colaboradores ⁽⁵⁹⁾.

Amostras de fezes dos indivíduos dos dois grupos foram colhidas em frascos estéreis contendo meio de transporte Transbac[®] (Probac do Brasil), que mantém viáveis tanto bactérias aeróbias como anaeróbias (Foto 1).



Foto 1 – Meio de Transporte Transbac®

Todos os indivíduos do Grupo Controle (GC) foram orientados, no momento da aplicação do questionário, sobre os procedimentos relacionados à coleta e transporte da amostra até o laboratório para os procedimentos padronizados.

Os indivíduos do Grupo G1 foram orientados, também no momento da aplicação do questionário, que deveriam coletar três amostras de fezes, sendo que a primeira deveria ser coletada antes de iniciar o tratamento com o antibiótico prescrito; a segunda deveria ser coletada no último dia do tratamento e a terceira um mês após o término do tratamento. Todas as datas foram agendadas individualmente para cada paciente a medida em que eram incluídos no estudo. Para evitar esquecimentos, 24 horas antes das datas das coletas a autora entrava em contato com cada um deles. E, durante o período do estudo, regularmente, receberam orientações, por telefone ou pessoalmente pela autora, sobre a importância do tratamento (aderência) e as datas das coletas das amostras subsequentes. O

espaço de tempo entre a coleta de cada amostra e sua manipulação no laboratório foi de aproximadamente uma hora ^(31,60).

Cada amostra foi homogeneizada, após desprezar adequadamente a solução conservante, e uma alíquota de um grama foi pesada em Balança Analítica - SCIENTECH SA120 – (Foto 2).

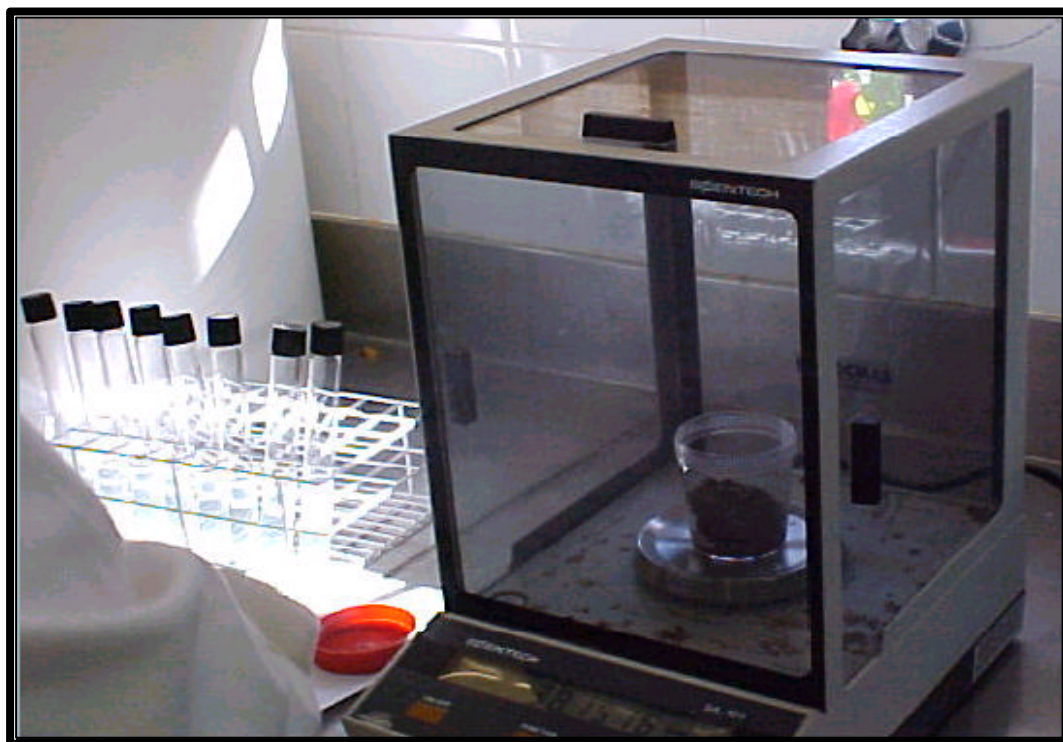


Foto 2 – Balança Analítica (pesagem do material)

Essa alíquota de um grama foi colocada em tubo de ensaio com tampa rosqueável (Foto 3), contendo nove ml de Stuart Transport Medium® (Oxoid). Este meio foi utilizado por conter o indicador Azul de Metileno, que indica a presença de oxigênio, que era indesejável para os procedimentos.

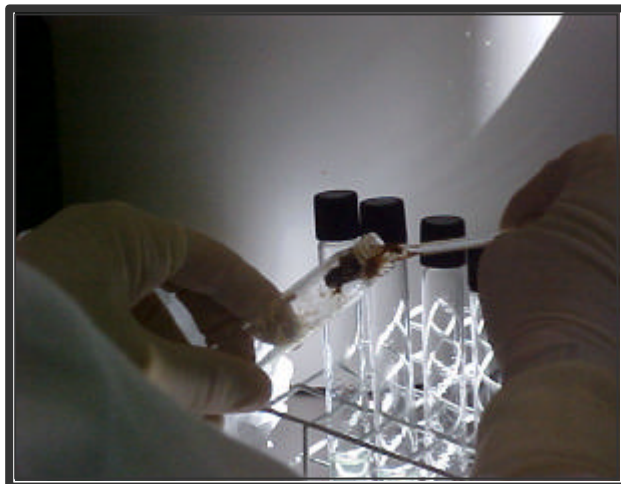


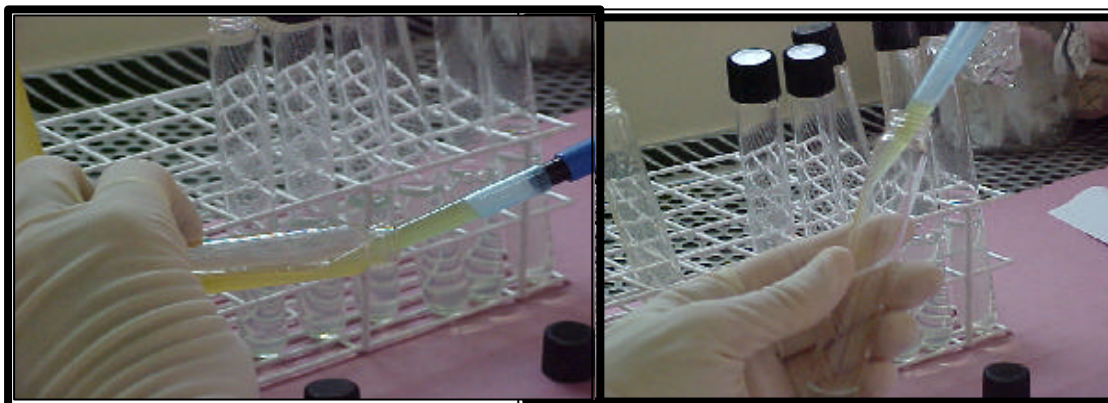
Foto 3 – Introdução da amostra no frasco

Esta mistura foi homogeneizada em Agitador de Tubos Phoenix (Mod. AT 56), até completa dissolução (Foto 4).



Foto 4 – Homogeneização da amostra

A partir desta diluição (10^{-1}), uma alíquota de 1000 μ l foi transferida para outro tubo de ensaio contendo o mesmo diluente (10^{-2}), e assim consecutivas diluições foram realizadas até alcançar 10^{-8} , utilizando o mesmo diluente em todos os tubos e agitação (Fotos 5 e 6).



Fotos 5 e 6 – Diluição da amostra

Foram utilizados os meios de cultura seletivos Kanamycin-vancomycin blood agar, Bifidobacterium medium e Lactobacillus selective medium (Probac do Brasil) para *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* respectivamente, preparados para este estudo pela Empresa Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda (Foto 7).

Foto 7 – Meios de cultura seletivos para *Bacteroides*(1), *Bifidobacterium*(2) e *Lactobacillus*(3)

Após o preparo dessas diluições, foi inoculado uma alíquota de 100 μ l , conforme o Quadro 3, nos meios de cultura seletivos (Fotos 8, 9, e, 10).

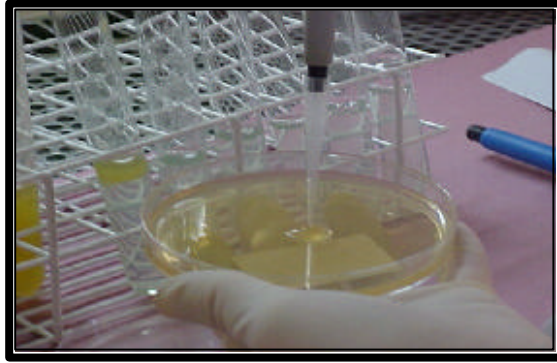


Foto 8- Inoculação de 100 μ l da amostra diluída em *Lactobacillus selective medium*

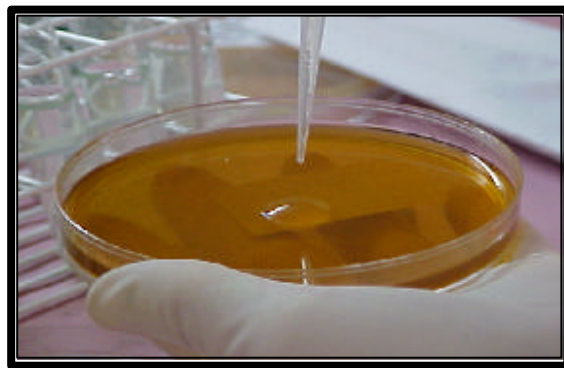


Foto 9- Inoculação de 100 μ l da amostra diluída em *Bifidobacterium medium*

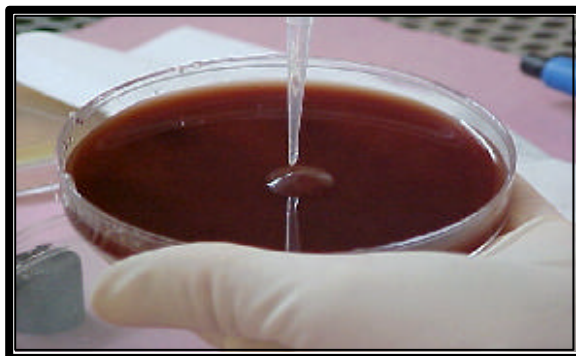


Foto 10- Inoculação de 100 μ l da amostra diluída em Kanamycin-vancomycin blood agar

Foram utilizados bastões de vidro em “L” (Foto 11) para semear as amostras, individualmente para cada diluição e meio de cultura, para evitar contaminação cruzada. A diluição e a inoculação foram realizadas em Câmara de Fluxo Laminar Vertical Pachane (Modelo PA-115).

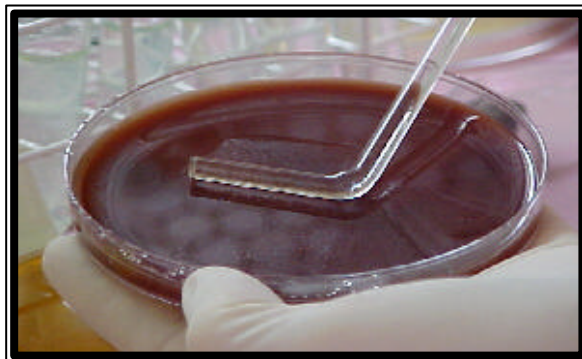


Foto 11 - Bastão de vidro usado para semear a amostra

A inoculação foi realizada segundo quadro abaixo.

Quadro 3: Inoculação de cada amostra, de acordo com meios de cultura seletivos, diluições e microrganismos ⁽⁵⁹⁾.

Meio de Cultura	Fezes (diluição)	Microrganismos
Kanamycin-vancomycin blood agar	$10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$	<i>Bacteroides</i>
Bifidobacterium medium	$10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$	<i>Bifidobacterium</i>
Lactobacillus selective medium	$10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	<i>Lactobacillus</i>

Terminada a inoculação, as placas devidamente identificadas, foram acondicionadas em Jarra Anaeróbica GasPak (Permutation) em ambiente de anaerobiose (Foto 12), e incubadas em estufa à 37°C por um período de 48 horas. Como gerador de atmosfera com teor reduzido de oxigênio e aumentado de gás carbônico foi utilizado o Anaerobac® (Probac do Brasil)(Foto 13).



Foto 12- Jarra de Anaerobiose GasPak (Permutation) contendo placas inoculadas, ativadas pelo gerador de gás carbônico Anaerobac® com fita indicadora

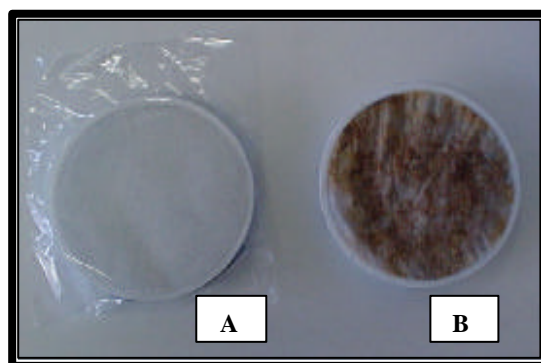


Foto 13- Anaerobac®, antes da incubação (A) e ao término da incubação (B)

Após esse período, foram analisadas quanto ao crescimento bacteriano e aspecto das colônias. As UFC foram contadas em cada placa, utilizando para isso lupa, régua e caneta porosa, de acordo com técnicas laboratoriais já padronizadas (Foto 14). As quantidades de UFC foram calculadas para cada diluição, e a seguir, a média para cada tipo de bactéria (Apêndices 1, 2 e 3).

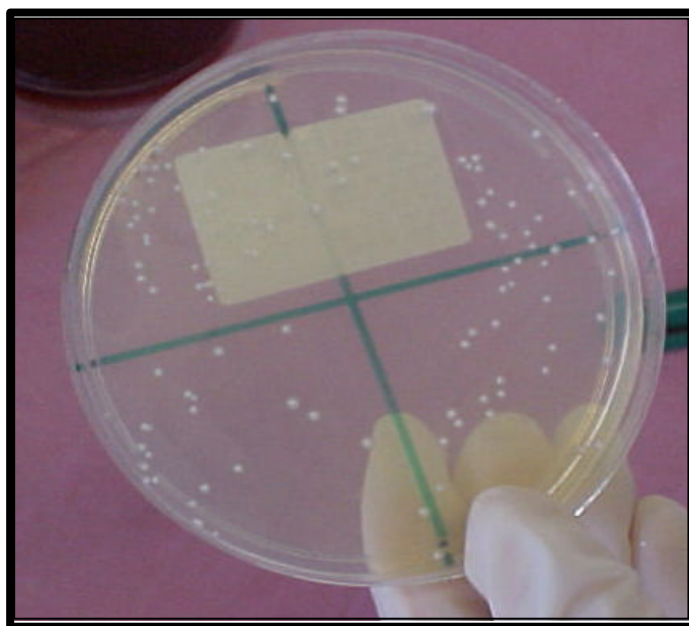


Foto 14- Contagem das colônias

Além disso, para cada teste foram realizadas as seguintes observações:

- morfologia das colônias – tamanho, forma, cor e aspecto (Foto 15)
- celular: coloração pelo Gram (Foto 16)
- prova da catalase: membros do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* dão reação negativa e bastonetes gram-negativos (*Bacteroides fragilis*) - dão reação positiva.



Foto 15- Análise das colônias

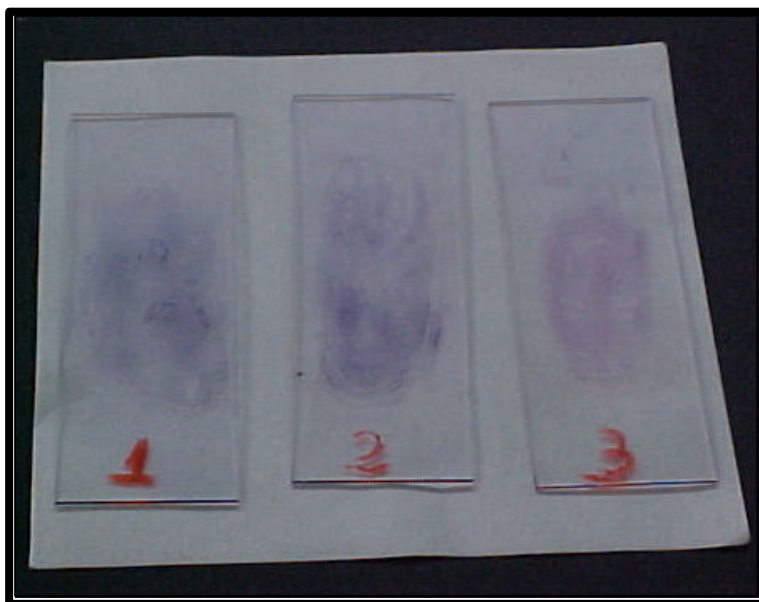
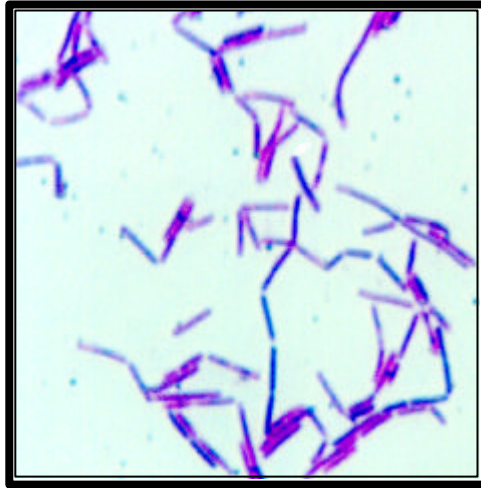


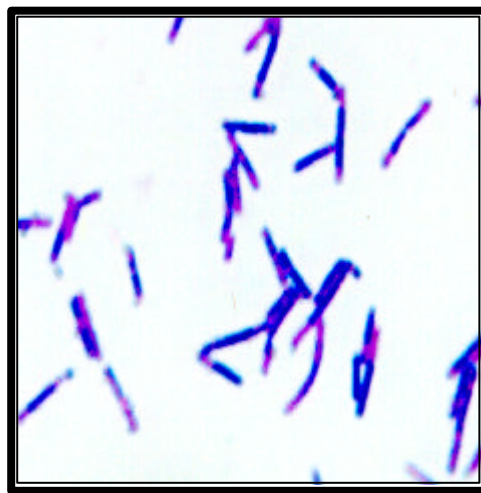
Foto 16 – Lâminas coradas pelo Gram
1- *Lactobacillus* – Gram-positivo
2- *Bifidobacterium* – Gram-positivo
3- *Bacteroides* – Gram-negativo

Lâminas coradas pelo Gram

Bacteroides – (Gram-negativo)



Bifidobacterium (Gram-positivo)



Lactobacillus (Gram-positivo)

Estas análises foram realizadas no Laboratório do Departamento de Doenças Tropicais pela autora do projeto.

2.11. Método Estatístico:

Para as contagens de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* foram calculados média e desvio padrão com a transformação logarítmica dos dados e média na escala original ⁽⁶¹⁾.

Para a comparação entre momentos (M_1 , M_2 e M_3) no grupo G1 foi utilizada a prova não-paramétrica de Friedman com o cálculo das estatísticas χ^2 e p.

Para a comparação entre os grupos GC (M_0) e G1 em cada momento foram utilizados o teste t para duas amostras independentes (usando o logaritmo da contagem) com o cálculo das estatísticas t e p e/ou o método não-paramétrico de Mann-Whitney.

Em todas as análises efetuadas, as estatísticas calculadas foram consideradas significativas quando $p = 0,05$ (p é a probabilidade de erroneamente concluir pela significância).

2.12. Ética (Anexo 7)

O presente estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-SP/UNESP, recebendo parecer favorável em outubro de 2001.

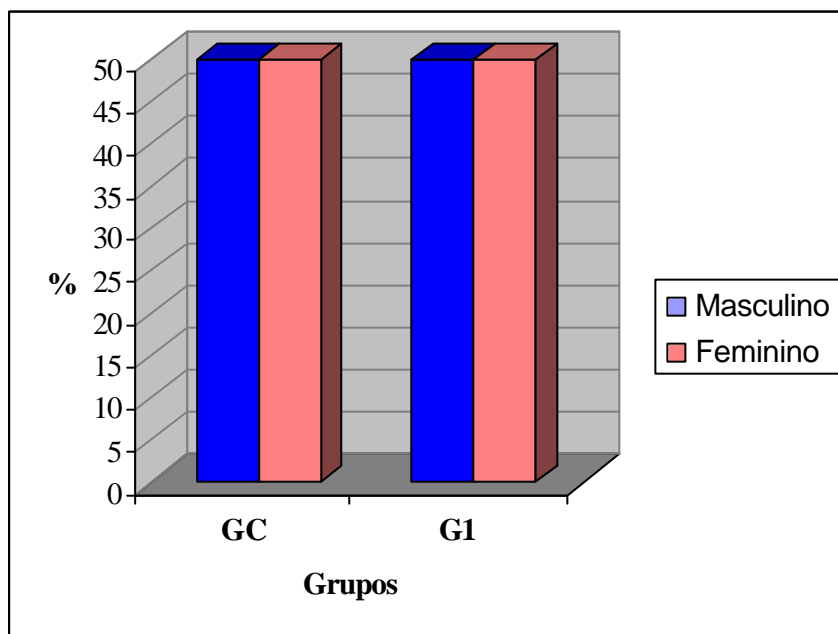
Resultados

RESULTADOS

1. Caracterização da casuística quanto ao sexo e idade.

A) Caracterização da casuística quanto ao sexo

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com o sexo está apresentada na Figura 1.



GC Grupo Controle - indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

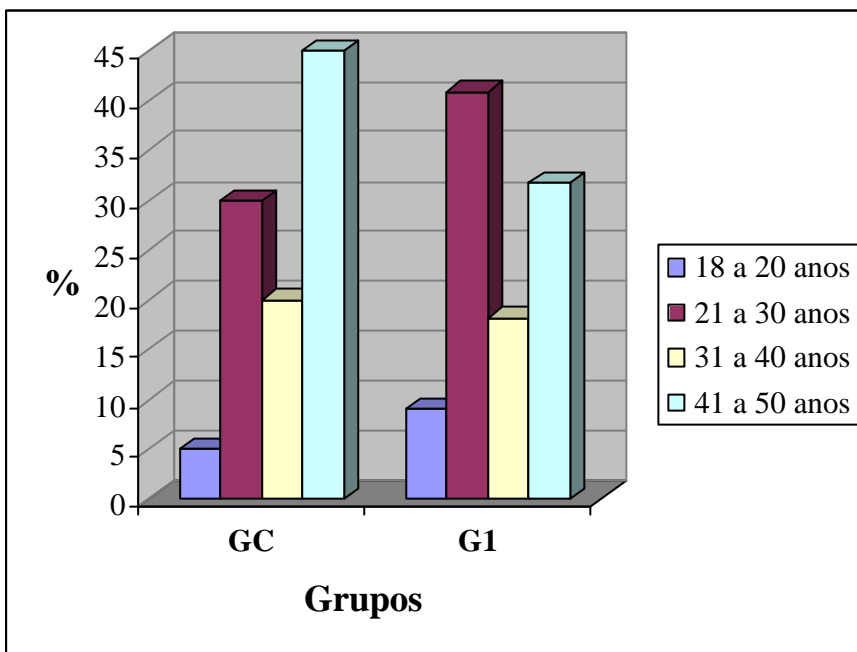
Figura 1 - Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com o sexo.

Botucatu-SP, 2002.

Foi observado que de acordo com o gênero, houve distribuição homogênea dos indivíduos no grupo controle e no grupo com infecção bacteriana respiratória.

B) Caracterização da casuística quanto à idade

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a idade está apresentada na Figura 2.



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue
G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

Figura 2 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com faixas etárias. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado entre os indivíduos do grupo GC que a maior porcentagem tinha entre 41 e 50 anos; no grupo G1 a maior porcentagem tinha entre 21 e 30 anos. Houve, portanto, predomínio de indivíduos mais jovens entre os pacientes.

2. Caracterização da casuística de acordo com as variáveis epidemiológicas: tabagismo e etilismo.

A) Caracterização da casuística de acordo com o hábito de fumar (tabagismo)

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com o hábito de fumar está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o hábito de fumar.

Botucatu-SP, 2002.

Tabagista \ Grupos	GC		G1		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Sim	5	(25,0)	7	(31,8)	12	(28,6)
Não	15	(75,0)	15	(68,2)	30	(71,4)
Total	20	(100,0)	22	(100,0)	42	(100,0)

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

n: número de indivíduos

Foi observado que 75% dos indivíduos do grupo GC e 68,2% dos pacientes do grupo G1 não tinham o hábito de fumar. Sendo assim, nos dois grupos constituídos, a porcentagem de não fumantes foi superior a de fumantes.

B) Caracterização da casuística de acordo com o hábito de ingerir bebidas alcoólicas (etilismo).

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com o hábito de ingerir bebidas alcoólicas está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o hábito de ingerir bebidas alcoólicas. Botucatu-SP, 2002.

Grupos Ingestão de Bebidas Alcoólicas	GC		G1		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Não	13	(65,0)	15	(68,2)	28	(66,6)
Etilista Social	7	(35,0)	6	(27,3)	13	(31,0)
Etilista Habitual	0	0	1	(4,5)	1	(2,4)
Total	20	(100,0)	22	(100,0)	42	(100,0)

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

n: número de indivíduos

Foi observado que 65% dos indivíduos do grupo GC e 68,2% dos pacientes do grupo G1 não consumiam bebidas alcoólicas.

3. Caracterização da casuística quanto às condições sócio-econômicas.

A) Caracterização da casuística de acordo com a renda familiar.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a renda familiar está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo renda familiar. Botucatu-SP, 2002.

Renda Familiar \ Grupos	GC		G1		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
15 ? 30 SM	6	(30,0)	2	(9,1)	8	(19,1)
09 ? 15 SM	4	(20,0)	4	(18,2)	8	(19,1)
04 ? 09 SM	7	(35,0)	7	(31,8)	14	(33,3)
02 ? 04 SM	3	(15,0)	9	(40,9)	12	(28,5)
Total	20	(100,0)	22	(100,0)	42	(100,0)

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue
 G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória
 SM: Salário Mínimo
 n: número de indivíduos

Foi observado que a maior porcentagem dos indivíduos no grupo GC tinha faixa salarial entre quatro e nove SM, porém 50% tinham faixa salarial acima de nove SM. No grupo G1 a maior porcentagem dos indivíduos também tinha faixa salarial entre quatro e nove salários mínimos, porém 40,9% tinham faixa salarial abaixo de quatro SM.

B) Caracterização da casuística quanto ao número de membros na família.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com o número de membros na família está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o número de membros na família. Botucatu-SP, 2002.

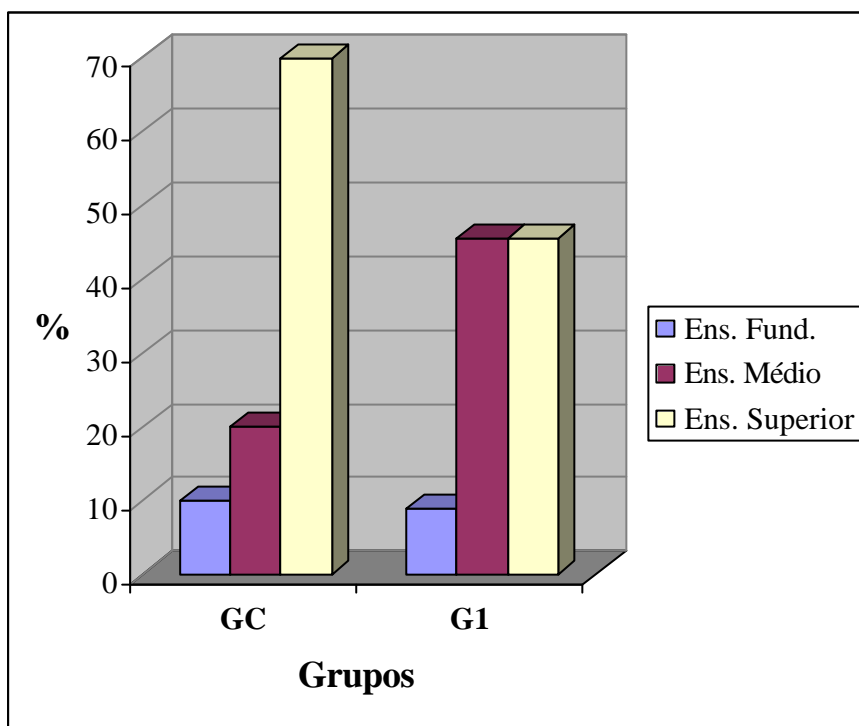
Grupos Nº membros na família	GC		G1		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
1 - 2	5	(25,0)	2	(9,1)	7	(16,7)
3 - 4	13	(65,0)	14	(63,6)	27	(64,3)
5 - 7	2	(10,0)	6	(27,3)	8	(19,0)
Total	20	(100,0)	22	(100,0)	42	(100,0)

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue
 G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória
 n: número de indivíduos

Foi observado nos grupos GC e G1 que a maior porcentagem das famílias dos indivíduos possuía três a quatro membros.

C) Caracterização da casuística quanto à escolaridade.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a escolaridade está apresentada na Figura 3.



GC: Grupo Controle – grupo de indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

Ens. Fund.: Ensino Fundamental

Ens. Médio: Ensino Médio

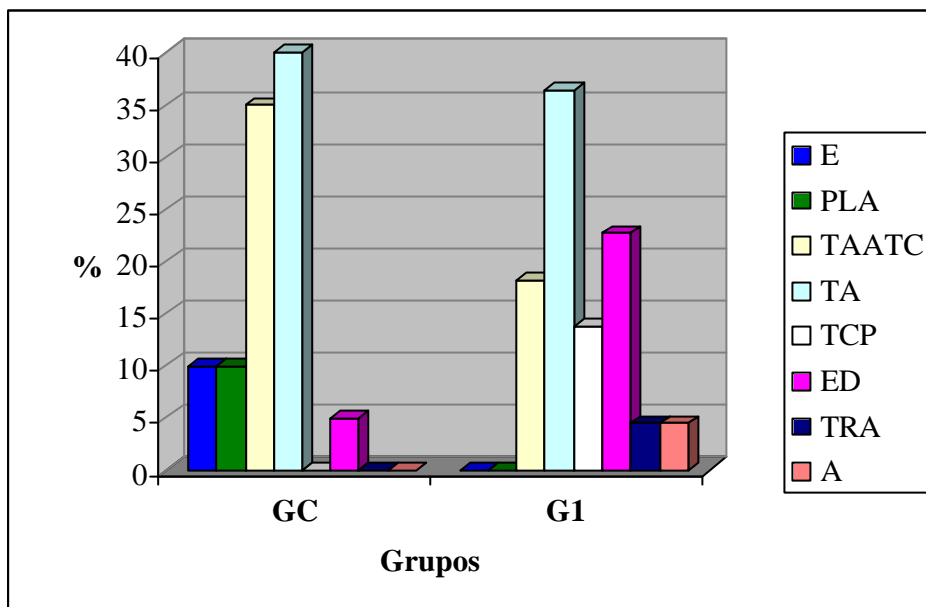
Ens. Superior: Ensino Superior

Figura 3 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo o grau de escolaridade dos chefes de família. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, em relação à escolaridade, que no grupo GC a maior porcentagem possuía nível superior, enquanto no grupo G1, a maior porcentagem possuía ensino médio e ensino superior.

D) Caracterização da casuística quanto à ocupação.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a ocupação do chefe da família está apresentada na Figura 4.



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

E: Empresário

PLA: Profissional Liberal Autônomo

TAATC: Trabalhador Assalariado Administrativo, Técnico e Científico

TA: Trabalhador Assalariado

TCP: Trabalhador por Conta Própria

ED: Empregado Doméstico

TRA: Trabalhador Rural Assalariado, Volante

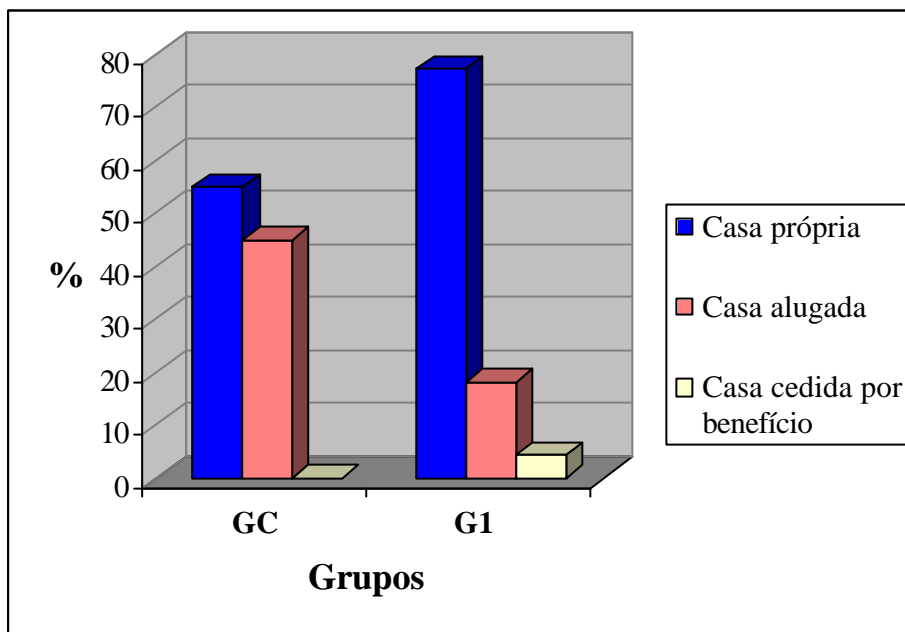
A: Aposentado

Figura 4- Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com a profissão do chefe da família. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado no grupo GC, que a maior porcentagem dos indivíduos tinha ocupação relacionada ao trabalho assalariado e trabalho assalariado administrativo, técnico e científico; no grupo G1, a maior porcentagem tinha ocupação relacionada ao trabalho assalariado e emprego doméstico.

E) Caracterização da casuística quanto à habitação.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a habitação está apresentada na Figura 5.



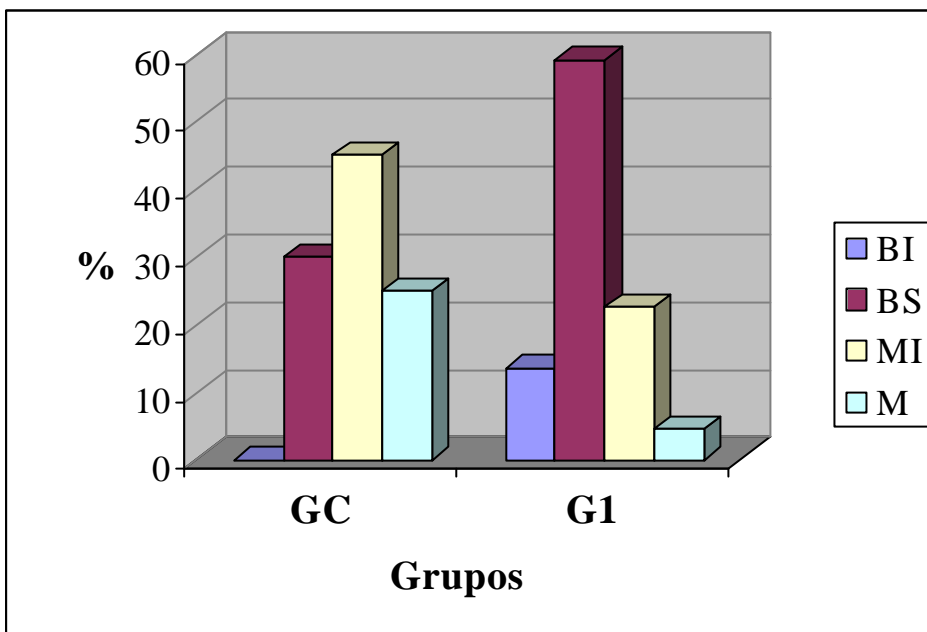
GC: Grupo Controle - indivíduos doadores de sangue
G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

Figura 5 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, de acordo com a condição da habitação. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado nos grupos GC e G1 que a maior porcentagem possuía casa própria.

F) Caracterização da casuística quanto à classe sócio-econômica.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com a classe sócio-econômica está apresentada na Figura 6.



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue
G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória
BI: Baixa Inferior
BS: Baixa Superior
MI: Média Inferior
M: Média

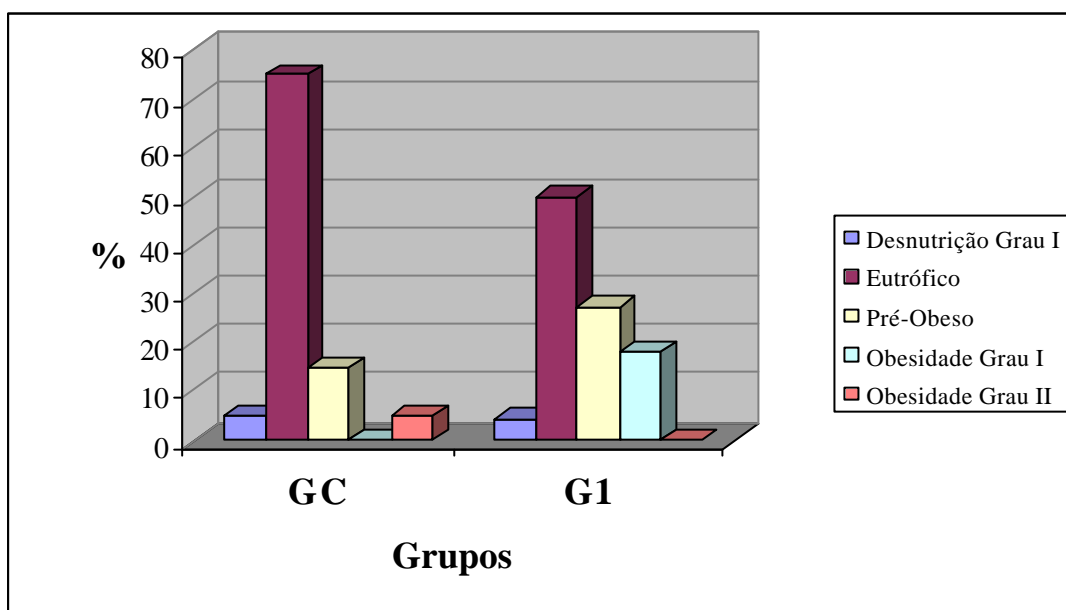
Figura 6 – Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo a classe sócio-econômica. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, que a maior porcentagem dos indivíduos do grupo GC, pertencia à classe sócio-econômica média inferior, e que no grupo G1 a maior porcentagem pertencia à classe baixa superior.

4. Caracterização da casuística quanto a avaliação nutricional.

A) Caracterização da casuística de acordo com o diagnóstico nutricional.

A distribuição dos indivíduos de ambos os grupos, de acordo com o diagnóstico nutricional está apresentada na Figura 7.



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

Desnutrição Grau I (Leve) – IMC= 17 a 18,49

Eutrófico – IMC= 18,5 a 24,9

Pré-Obeso – IMC= 25 a 29,9

Obesidade Grau I – IMC= 30 a 34,9

Obesidade Grau II – IMC= 35 a 39,9

Figura 7- Distribuição dos indivíduos dos grupos GC e G1, segundo diagnóstico nutricional, baseado no cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC). Botucatu-SP, 2002.

Foi observado que a maior porcentagem dos indivíduos dos grupos GC e G1 apresentou IMC entre 18,5 e 24,9 e, portanto foram considerados eutróficos.

B) Caracterização da casuística de acordo com a análise da ingestão de alimentos.

A análise do registro alimentar de três dias dos indivíduos do grupo controle e do grupo com infecção bacteriana do trato respiratório demonstrou que em relação aos macronutrientes, fibras alimentares e micronutrientes, não houve diferença entre os dois grupos.

5. Composição da microbiota intestinal dos pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) e dos indivíduos do grupo controle (GC).

A) Contagem de *Bacteroides*

A composição da microbiota intestinal, em termos de *Bacteroides*, do grupo controle e do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório está apresentada na Tabela 5 e Figura 8.

Tabela 5 – Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de *Bacteroides* no grupo controle - GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório - G1 nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

BACTEROIDES				
	GC (N=20)		G1 (N=22)	
	M_0	M_1	M_2	M_3
Média	$7,17 \times 10^{10}$	$1,81 \times 10^{10}$	$4,09 \times 10^{10}$	$3,87 \times 10^{10}$
*Média	10,8557	10,2582	10,6121	10,5880
*DP	0,7138	1,0541	0,6265	0,6022

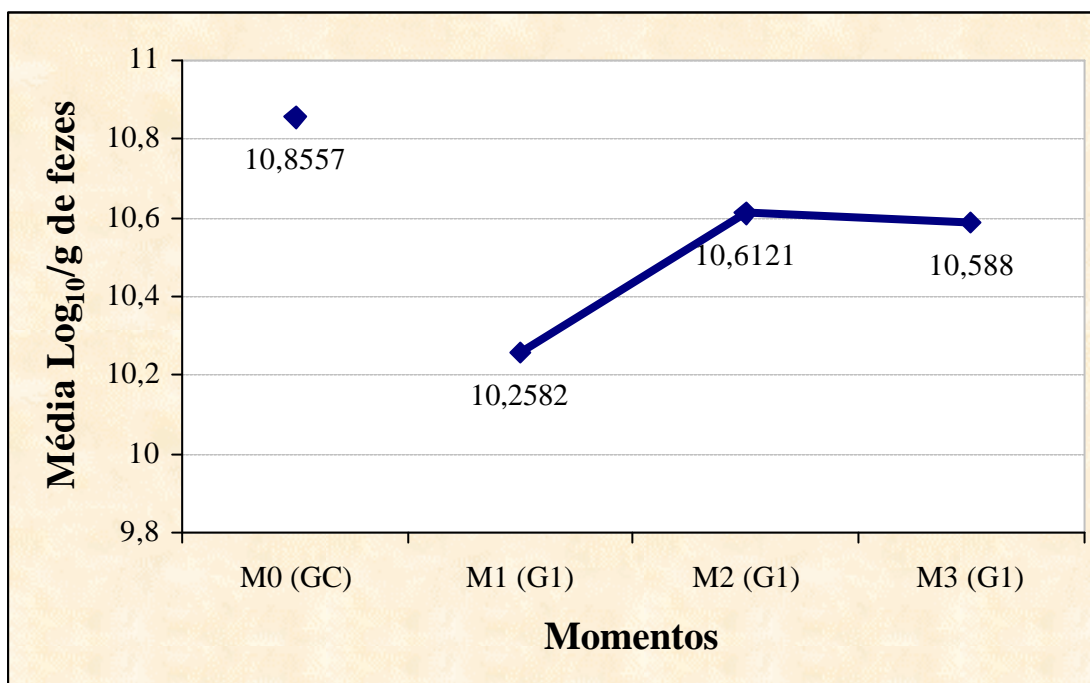
*: Valor da média e desvio padrão após transformação logarítmica da contagem de *Bacteroides*

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

N: Número de indivíduos

	Hipótese	Estatística Calculada	Nível de Significância	Comentário
Comparação entre M_1 , M_2 e M_3	$M_1 = M_2 = M_3$	$\chi^2 = 6,909$	$p < 0,05$	$M_1 < (M_2 = M_3)$
Comparação entre GC e G1	GC = G1	t = 2,19 t = 1,18 t = 1,32	$p < 0,05$ $p > 0,10$ $p > 0,10$	$M_0 > M_1$ $M_0 = M_2$ $M_0 = M_3$



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

M0: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* do grupo controle

M1: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* antes do início do tratamento

M2: Média do Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* ao final do tratamento

M3: Média do Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* 30 dias após o tratamento

$$\chi^2 = 6,909 - p < 0,05 - M_1 < (M_2 = M_3)$$

$$t = 2,19 - p < 0,05 - M_0 > M_1$$

Figura 8- Média do Log₁₀ da contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, quando comparamos entre si, os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) que no momento M_1 houve redução significativa ($p < 0,05$) na quantidade de UFC/g de fezes de *Bacteroides*. Esse momento corresponde ao período em que o paciente ainda não havia iniciado o tratamento com antimicrobiano.

Também foi observado, quando comparamos os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) com o momento M_3 do grupo controle (GC), que também houve redução significativa ($p < 0,05$) na quantidade de UFC/g de fezes de *Bacteroides* no momento M_1 , demonstrando que o processo infeccioso bacteriano do trato respiratório influenciou a população intestinal de microrganismos do gênero *Bacteroides*, no grupo de pacientes.

B) Contagem de *Bifidobacterium*

A composição da microbiota intestinal, em termos de *Bifidobacterium*, do grupo controle e do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório está apresentada na Tabela 6 e Figura 9.

Tabela 6 – Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de *Bifidobacterium* no grupo controle - GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório – G1, nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

BIFIDOBACTERIUM				
	GC (N=20)		G1 (N=22)	
	M_0	M_1	M_2	M_3
Média	8,41 x 10 ⁹	4,37 x 10 ⁹	1,85 x 10 ⁹	4,44 x 10 ⁹
*Média	9,9250	9,6410	9,2676	9,7965
*Desvio Padrão	0,9551	0,7441	0,7962	0,7089

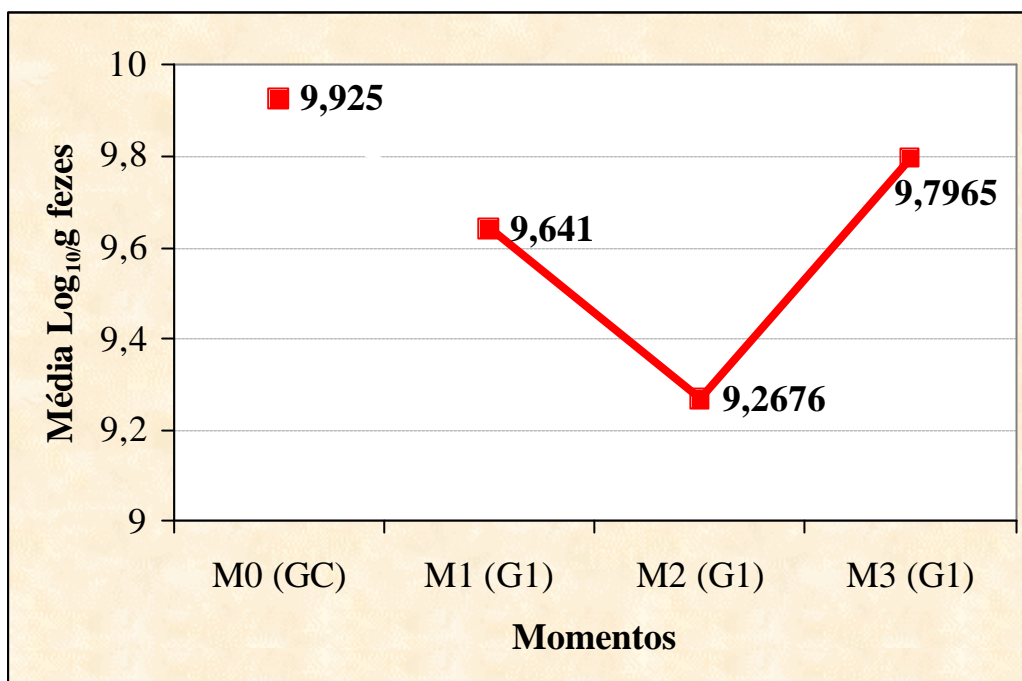
*: Valor da média e desvio padrão após transformação logarítmica da contagem de *Bifidobacterium*

GC: Grupo controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

N: Número de indivíduos

	Hipótese	Estatística Calculada	Nível de Significância	Comentário
Comparação entre M_1 , M_2 e M_3	$M_1 = M_2 = M_3$	$\chi^2 = 11,545$	$p < 0,01$	$(M_1 = M_3) > M_2$
Comparação entre GC e G1	GC = G1	t = 2,43 t = 1,08 t = 0,50	p < 0,02 p > 0,10 p > 0,50	$M_0 > M_2$ $M_0 = M_1$ $M_0 = M_3$



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

M0: média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* do grupo controle

M1: média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* antes do início do tratamento

M2: média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* ao final do tratamento

M3: média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* 30 dias após o tratamento

$$\chi^2 = 11,545; \quad p < 0,01 - (M_1 = M_3) > M_2$$

$$t = 2,43; \quad p < 0,02 - M_0 > M_2$$

Figura 9- Média do Log₁₀ da contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* nos grupos

GC e G1. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, quando comparamos entre si, os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) que no momento M_2 houve redução significativa ($p < 0,01$) na quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium*. Nesse momento os pacientes estavam terminando o tratamento com o antimicrobiano.

Também foi observado, quando comparamos os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) com o momento M_1 do grupo controle (GC), que também houve redução significativa ($p < 0,02$) na quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* no momento M_2 , demonstrando que o tratamento com amoxicilina influenciou a população intestinal de microrganismos do gênero *Bifidobacterium* no grupo de pacientes.

C) Contagem de *Lactobacillus*

A composição da microbiota intestinal em termos de *Lactobacillus*, do grupo controle e do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório está apresentada na Tabela 7 e Figura 10.

Tabela 7 – Média das contagens e média e desvio padrão do logaritmo da contagem de *Lactobacillus* no grupo controle - GC (M_0) e no grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório – G1 nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

<i>LACTOBACILLUS</i>				
	GC (N=20)		G1 (N=22)	
	M_0	M_1	M_2	M_3
Média	$8,32 \times 10^8$	$1,62 \times 10^8$	$0,82 \times 10^8$	$7,31 \times 10^8$
*Média	8,9199	8,2100	7,9146	8,8640
*Desvio padrão	0,9783	1,3747	1,3533	1,2934

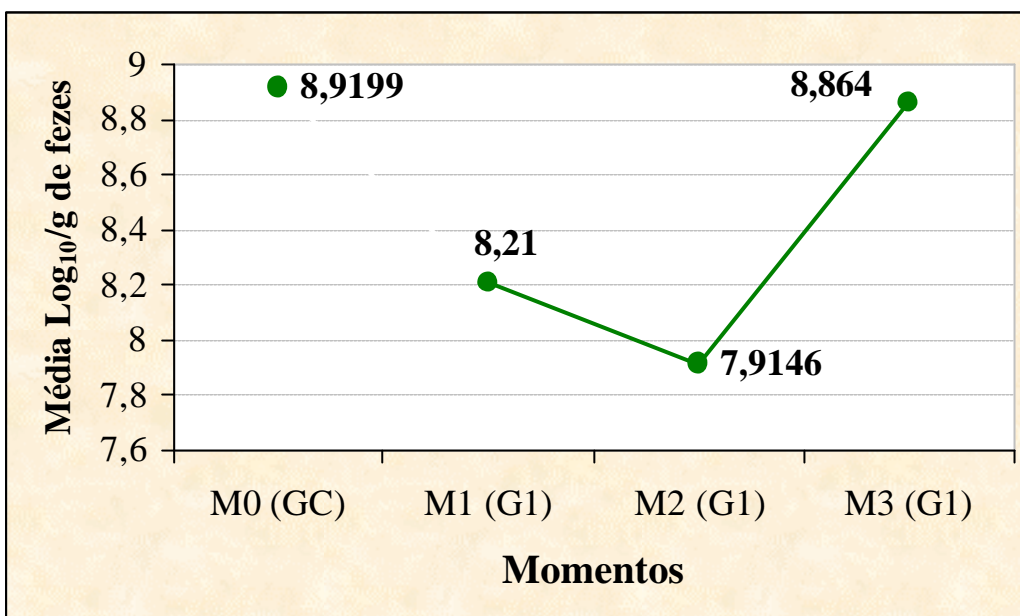
*: Valor da média e desvio padrão após transformação logarítmica da contagem de *Lactobacillus*.

GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

N: Número de indivíduos

	Hipótese	Estatística Calculada	Nível de Significância	Comentário
Comparação entre M_1 , M_2 e M_3	$M_1 = M_2 = M_3$	$\chi^2 = 20,727$	$p < 0,001$	$M_2 < M_1 < M_3$
Comparação entre GC e G1	GC = G1	t = 1,96 t = 2,79 t = 0,16	p = 0,05 p < 0,01 p > 0,05	$M_0 > M_1$ $M_0 > M_2$ $M_0 = M_3$



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

M0: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* do grupo controle

M1: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* de lactobacilos antes do início do tratamento

M2: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* ao final do tratamento

M3: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* 30 dias após o tratamento

$$\chi^2 = 20,727; p < 0,001 - M_2 < M_1 < M_3$$

$$t = 1,96; p = 0,05 - M_0 > M_1$$

$$t = 2,79; p < 0,01 - M_0 > M_2$$

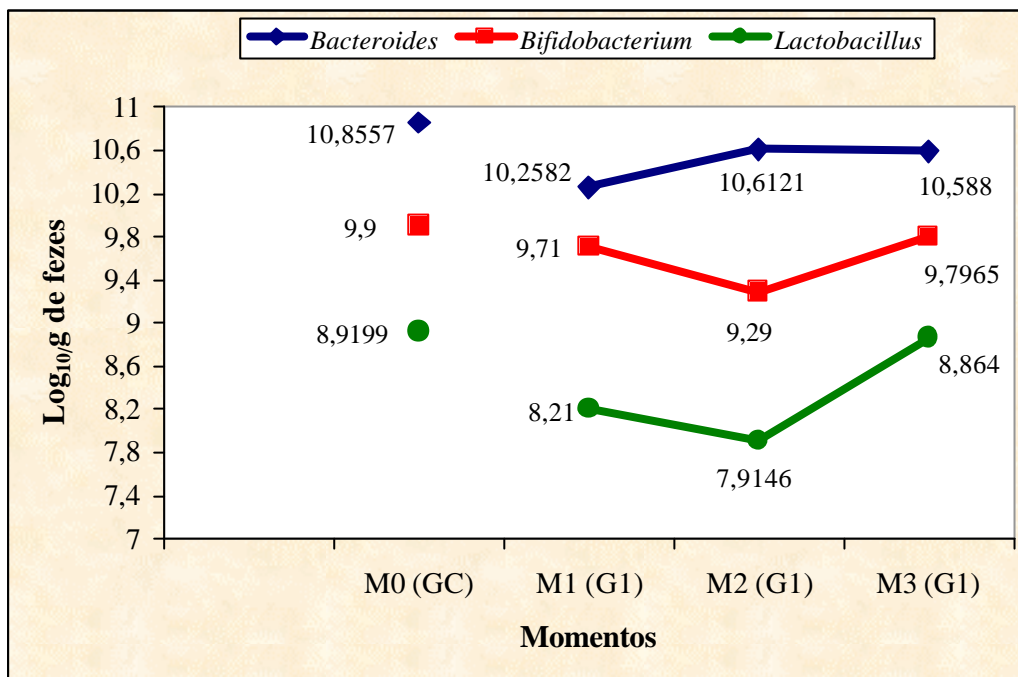
Figura 10- Média do Log₁₀ da contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, quando comparamos entre si, os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) que no momento M_2 (ao final do tratamento) a quantidade de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* foi menor que a quantidade observada no momento M_1 (antes do tratamento), que por sua vez foi menor que a obtida no momento M_3 (30 dias após o tratamento) com $p < 0,001$.

Também foi observado, quando comparamos os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) com o momento M_0 do grupo controle (GC), que também houve redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* no momento M_1 ($p = 0,05$) e no momento M_2 ($p < 0,01$) demonstrando que o processo infeccioso bacteriano do trato respiratório e o tratamento com amoxicilina influenciaram a população intestinal de microrganismos do gênero *Lactobacillus* no grupo de pacientes.

D) Contagem de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*

A composição da microbiota intestinal em termos de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, do grupo controle e do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório está apresentada na Figura 11.



GC: Grupo Controle – indivíduos doadores de sangue

G1: Grupo de pacientes com infecção bacteriana respiratória

M0: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* do grupo controle

M1: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* antes do início do tratamento

M2: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* ao final do tratamento

M3: Média Log₁₀ contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* 30 dias após o final do tratamento

Figura 11 – Média do Log₁₀ da contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* nos grupos GC e G1. Botucatu-SP, 2002.

Foi observado, quando comparamos entre si, os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) que no momento M_1 houve redução significativa nas quantidades de UFC/g de fezes de *Bacteroides* e *Lactobacillus* e no momento M_2 houve redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Também foi observado, quando comparamos os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório (G1) com o momento M_0 do grupo controle (GC), que houve redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de *Bacteroides* e *Lactobacillus* no momento M_1 e no momento M_2 houve diminuição significativa na quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Para comparação entre os grupos GC (M_0) e G1 (M_1 , M_2 e M_3), para cada um dos três microrganismos estudados, foi utilizado também o método não-paramétrico de Mann-Whitney, que não foi apresentado nos resultados, pois levou à mesma conclusão do teste t.

Discussão

DISCUSSÃO

O ecossistema gastrointestinal é um vasto campo de pesquisa, que há muito tempo tem despertado o interesse dos pesquisadores. Embora vários estudos tenham investigado a microbiota gastrointestinal em vários detalhes^(34,39, 62-66), poucas informações relacionadas à influência de determinadas doenças e a utilização de terapias antimicrobianas estão disponíveis.

Nesse sentido, este estudo investigou diferenças na composição da microbiota intestinal entre indivíduos normais e pacientes com infecção bacteriana do trato respiratório tratados com amoxicilina. Esta investigação enfocou três gêneros de bactérias anaeróbias consideradas importantes para a saúde do indivíduo: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides*⁽⁶⁷⁾.

Vários fatores podem influenciar a microbiota intestinal, entre eles a idade do indivíduo. Porém essas alterações são mais intensas ao nascimento quando a flora se estabelece e o trato gastrointestinal se coloniza com os microrganismos que são ingeridos pela da alimentação e pelo contato com o meio ambiente^(4,7,12). Alterações nessa microbiota também são freqüentes com o envelhecimento, quando há redução significativa da quantidade de *Bifidobacterium*, e aumento da quantidade de *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e *Streptococcus*⁽¹²⁾. Porém, de acordo com muitos autores^(4,5,12,15,17,68) na fase adulta a flora intestinal humana é relativamente estável em termos qualitativo e quantitativo. Para Berg⁽³⁾, a microflora gastrointestinal indígena do adulto representa o auge das comunidades de microrganismos sendo acentuadamente estável.

A faixa etária dos indivíduos no presente estudo ficou compreendida entre 18 e 50 anos, período que de acordo com esses autores, não há alteração significativa da microbiota

intestinal. Sendo assim, podemos considerar que as alterações encontradas estão relacionadas a outros fatores.

Desordens relacionadas aos hormônios esteróides também podem influenciar a microbiota gastrointestinal. De acordo com o estudo desenvolvido por Bertazzoni-Minelli e colaboradores ⁽⁶⁹⁾ as amostras de fezes das mulheres após a menopausa apresentaram maior quantidade de fungos, *Clostridium* e lactobacilos, do que as amostras colhidas de mulheres em idade fértil. Eles concluíram que essas alterações poderiam estar relacionadas às modificações no padrão dos hormônios esteróides, que ocorrem nesse período da vida da mulher.

Para evitar essa influência neste estudo, os indivíduos foram distribuídos de forma homogênea quanto ao gênero nos dois grupos e foram excluídas as mulheres que apresentavam desordens hormonais.

Outro fator, que de acordo com muitas pesquisas, pode influenciar a microbiota intestinal é a dieta ^(2,14,34,70,71). A alimentação do indivíduo está relacionada com sua condição sócio-econômica, com estilo de vida e com hábitos culturais. Quando os indivíduos pertencem a uma mesma área geográfica onde os hábitos culturais e estilos de vida são semelhantes, a condição sócio-econômica se torna o fator mais decisivo na determinação do tipo de dieta do mesmo. Neste estudo os indivíduos foram classificados em classes sócio-econômicas, e foi realizada a análise da ingestão de alimentos através do registro alimentar de três dias, para o cálculo das calorias totais, carboidratos, proteínas, lipídeos e outros nutrientes. Os resultados obtidos nesta análise e o diagnóstico nutricional dos indivíduos sugerem que a dieta não influenciou a composição da microbiota intestinal. Mesmo assim, de acordo com Simon & Gorbach ⁽⁵⁾, a dieta tem pouca influência sobre a composição taxonômica bacteriana da flora fecal, exercendo efeito maior sobre sua

atividade metabólica. Além disso, outros estudos demonstraram que a dieta não apresenta ou apresenta pouco efeito sobre a composição da flora fecal ^(17,72-74).

Outras condições como etilismo e tabagismo podem influenciar a microbiota gastrointestinal. Alguns estudos ^(75,76) demonstraram que algumas desordens como o alcoolismo crônico pode desencadear alterações detectáveis na população microbiana que coloniza a orofaringe. Neste estudo, foi observada pequena proporção de etilistas e tabagistas entre os indivíduos; ainda assim foram estudadas bactérias que fazem parte da microbiota intestinal, sobre a qual não foram encontrados estudos relacionados a influência do tabagismo e do etilismo.

Nos últimos anos, algumas pesquisas têm verificado a influência de determinados processos inflamatórios sobre a microbiota gastrointestinal.

De acordo com Mackowiak ⁽¹⁰⁾ doenças e a debilitação geral, que freqüentemente acompanha processos patológicos graves, são potencial fonte de distúrbio da microflora intestinal.

A relação entre artrite reumatóide e microbiota intestinal tem recebido muita atenção dos pesquisadores. O estudo desenvolvido por Eerola e colaboradores ⁽⁴³⁾ demonstrou que pacientes com artrite reumatóide inicial tinha flora fecal significativamente diferente da flora fecal dos indivíduos do grupo controle. Em outro estudo, Shinebaum e colaboradores ⁽⁷⁷⁾, demonstraram que a flora fecal de pacientes com artrite reumatóide era diferente da flora fecal de indivíduos normais. Malin e colaboradores ⁽⁷⁸⁾ também sugeriram alteração da microflora intestinal em artrite crônica juvenil.

Vários estudos também estão sendo desenvolvidos sobre microbiota intestinal e doenças alérgicas. Björkstén e colaboradores ⁽⁷⁹⁾ verificaram que a microflora intestinal de crianças alérgicas era diferente da microflora intestinal de crianças não alérgicas, com

poucos lactobacilos, bifidobactérias e bacteróides, e maior quantidade de microrganismos aeróbios tais como *Staphylococcus aureus* e coliformes. Böttcher e colaboradores⁽⁸⁰⁾ compararam a flora microbiana intestinal de crianças alérgicas e não alérgicas através da análise de marcadores bioquímicos associados a microflora nas fezes e verificaram desequilíbrio na flora intestinal das crianças alérgicas. O estudo desenvolvido por Watanabe e colaboradores⁽⁸¹⁾ também verificou que em pacientes com dermatite atópica a contagem de *Bifidobacterium* foi significativamente menor do que em indivíduos normais.

Durante episódios de diarreia também foi verificada alteração da microbiota intestinal. De acordo com Salminen, Isolauri & Onnela⁽⁷⁾, a densidade populacional de *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium* diminuem durante diarreia aguda.

Neste estudo foi observado que o processo infeccioso do trato respiratório de origem bacteriana, também provocou alteração da microbiota intestinal, assim como a artrite reumatóide, doença atópica e episódio agudo de diarreia. Os resultados são semelhantes aos encontrados por Björkstén e colaboradores⁽⁷⁹⁾, que estudaram a microflora intestinal de crianças alérgicas. Foi observada redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de microrganismos dos gêneros *Bacteroides* e *Lactobacillus*, porém o gênero *Bifidobacterium* permaneceu inalterado.

Isto demonstra que em condições de infecção e inflamação, o balanço ecológico da microbiota intestinal pode ser alterado.

As infecções do trato respiratório são as mais comuns da prática médica geral, e conseqüentemente os antibióticos são rotineiramente prescritos em tais condições, e estes podem provocar vários efeitos prejudiciais sobre a microflora gastrointestinal⁽⁴⁹⁾.

Vários estudos têm demonstrado que as terapias antimicrobianas representam as causas mais importantes de alteração da microbiota gastrointestinal.

Assim, dentre os fatores exógenos, os agentes antimicrobianos são aqueles capazes de induzir mudanças rápidas e profundas na microflora intestinal ^(7,10,30,31). A extensão dessas mudanças depende não apenas do espectro de ação do agente antimicrobiano mas também do seu grau de absorção, rota de administração e possível inativação enzimática e/ou capacidade de ligação aos líquidos corporais e material intestinal ⁽⁸²⁾.

Na última década, vários pesquisadores estudaram o efeito de diferentes agentes antimicrobianos. A amoxicilina como foi mencionado anteriormente, é o medicamento de primeira escolha para tratamento de infecções do trato respiratório, e devido a sua expressiva utilização, é um dos agentes antimicrobianos que tem recebido a atenção dos pesquisadores.

Christensson e colaboradores ⁽⁸³⁾ estudaram 38 pacientes com infecção do trato respiratório inferior tratados com amoxicilina (250 mg X 3 por 7 dias) e observaram que o número de enterobactérias e de bactérias anaeróbias (*Bacteroides*) aumentaram significativamente na microflora intestinal dos pacientes durante o tratamento. Também verificaram o aparecimento de cepas resistentes de enterobactérias e o crescimento excessivo de *C. difficile* e *Candida*.

Brismar, Edlund & Nord, ⁽⁸⁴⁾ também observaram alteração na microflora intestinal de 10 voluntários normais após a administração de amoxicilina (500 mg X 3 por 7 dias). Na flora intestinal aeróbia foi observado pequeno decréscimo no número de estreptococos e estafilococos. Também houve crescimento excessivo de espécies de *Klebsiella* e de *Enterobacter*. Na flora intestinal anaeróbia, apenas o número de eubactéria foi reduzido.

Floor e colaboradores ⁽⁴⁹⁾ avaliaram o efeito da amoxicilina (500mg X 3 por 7 dias) sobre a microflora intestinal de pacientes com bronquite. O número de bastões gram-

negativos aeróbios aumentou significativamente e em 35% dos pacientes foram detectadas cepas resistentes de enterobactérias. A flora anaeróbia não foi alterada.

Edlund, Stark & Nord ⁽⁸⁵⁾ estudaram o efeito da amoxicilina (500 mg X3 por 7 dias) sobre a microflora intestinal de voluntários normais. Apenas pequenas alterações foram observadas sobre a microflora fecal; embora o crescimento excessivo de novas enterobactérias resistentes a amoxicilina ocorreu em todos os voluntários.

Stark e colaboradores ⁽⁸⁶⁾ estudaram 14 pacientes com infecção por *Helicobacter pylori* tratados com amoxicilina (1000 mg X 2 por 14 dias) e observaram que a microflora anaeróbia foi significativamente reduzida.

Lode e colaboradores ⁽⁸⁷⁾ estudaram 12 voluntários normais que receberam 875 mg de amoxicilina e 125 mg de ácido clavulânico em uma dose/dia por 7 dias e observaram na microflora anaeróbia que o número de bifidobactérias, lactobacilos e clostrídios diminuíram significativamente, enquanto o número de bacteróides não foi alterado. Observaram também que a microflora foi normalizada 35 dias após o final da administração dos medicamentos.

MacCartney, Wenzhi & Tannock ⁽⁸⁸⁾ observaram que a administração de amoxicilina (para apenas um indivíduo que durante a pesquisa necessitou tratar uma infecção respiratória e utilizou amoxicilina na dosagem de 1000 mg/dia por sete dias), não alterou a quantidade de bifidobactérias, lactobacilos e bacteróides.

Neste estudo a administração de amoxicilina para o tratamento das infecções bacterianas do trato respiratório, provocou redução significativa na quantidade de microrganismos dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e não impediu a recuperação da quantidade de *Bacteroides*, que em função do processo infeccioso havia diminuído significativamente. Estes resultados concordam com Finegold ⁽⁴⁰⁾ que analisou a ação das

penicilinas sobre a flora intestinal e verificou redução no número de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e nenhuma alteração no número de *Bacteroides*; e com Lode e colaboradores ⁽⁸⁷⁾ que obtiveram resultados semelhantes utilizando amoxicilina e ácido clavulânico.

Pode-se observar que poucos estudos foram realizados com a amoxicilina, e aqueles que foram desenvolvidos não pesquisaram as mesmas espécies bacterianas. Por isso, as análises comparativas são prejudicadas. Mesmo assim, foi constatado que a administração da amoxicilina promoveu impacto sobre a microbiota intestinal, afetando vários grupos de microrganismos. Além disso, os estudos comprovaram que houve crescimento excessivo de microrganismos potencialmente patogênicos e emergência de espécies resistentes de enterobactérias na microflora gastrointestinal tanto de indivíduos saudáveis como de pacientes.

Por isso, é importante identificar desequilíbrio da microbiota gastrointestinal em decorrência de processos infecciosos e do uso de antimicrobianos. Os *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* tem reconhecida importância na manutenção da saúde do hospedeiro. Qualquer alteração quantitativa nesse grupo de microrganismos pode ter graves conseqüências no equilíbrio ecológico da microbiota intestinal e conseqüentemente acarretar prejuízos para o hospedeiro.

Os *Bacteroides*, por exemplo, são versáteis nutricionalmente e podem utilizar uma grande variedade de fontes de carbono. Essas bactérias parecem ser responsáveis pela maioria da digestão de polissacárides que ocorrem no intestino grosso ^(89,90). Além disso, assim como as bifidobactérias, exercem importante função na resistência à colonização por *Clostridium difficile* ⁽⁹¹⁾. Alterações na composição dessa população, ao nível de espécies, poderia ter consideráveis conseqüências para o indivíduo.

As bifidobactérias formam um grupo numericamente importante, capazes de desenvolver uma grande variedade de atividades biológicas relacionadas à saúde do hospedeiro. Um desses aspectos é o efeito inibitório sobre outras espécies, possivelmente impedindo a colonização por patógenos invasivos ^(12,92). Tem sido sugerido que o mecanismo de inibição está relacionado com a produção de ácido acético e lático e outras substâncias antimicrobianas de amplo espectro de ação ⁽²³⁾.

Os lactobacilos fazem parte da microflora anaeróbia gram-positiva normal. São encontrados em grandes quantidades. Esses microrganismos contribuem para a manutenção da resistência à colonização, assim como as bifidobactérias, possivelmente pela produção de ácidos acético e lático, que diminuem o pH intestinal, impedindo o crescimento excessivo de outros microrganismos, potencialmente patogênicos, que têm seu crescimento limitado pela acidez intestinal. O peróxido de hidrogênio, também produzido por lactobacilos impede o crescimento de leveduras (*Candida albicans*). Além dessas substâncias, outras com ação antimicrobianas são produzidas ⁽⁹³⁾.

Os lactobacilos podem deslocar-se através da barreira intestinal ⁽⁹⁴⁾. A capacidade de translocação dessa bactéria influencia as células do sistema imune. Hesse, Hanson & Wold ⁽⁹⁵⁾ verificaram que espécies de lactobacilos que colonizam a mucosa gastrointestinal humana são potentes indutores de IL-12 por células mononucleares do sangue periférico. Outra função importante dos lactobacilos é a regulação dos níveis de colesterol no sangue. Eles são capazes de converter o colesterol em coprostanol, que é menos solúvel, e assim, é excretado, impedindo sua absorção e elevação dos níveis plasmáticos ⁽⁵⁾.

Os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são freqüentemente utilizados em produtos alimentares conhecidos por probióticos ⁽⁹⁶⁻⁹⁸⁾. Essas bactérias são capazes de sobreviver a passagem pelo trato gastrointestinal e fixar-se temporariamente no intestino ⁽¹⁴⁾, com vários

efeitos sobre o sistema imune. Entre esses efeitos, podem ser citados o estímulo da função fagocitária⁽⁹⁹⁾ e o controle do balanço entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias⁽⁹⁸⁾.

Neste estudo foi observado que, *Bacteroides* e *Lactobacillus* foram reduzidos significativamente em função do processo infeccioso, e a administração da amoxicilina promoveu redução também significativa da quantidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Também foi observado que esses microrganismos retornaram ao normal 30 dias após o término do tratamento, da mesma forma como foi observado por Lode e colaboradores⁽⁸⁷⁾.

A diminuição destes microrganismos pode representar diversos prejuízos para o hospedeiro, sendo um dos principais a diminuição da resistência à colonização. Esses prejuízos, uma vez identificados, podem ser minimizados pela equipe de saúde através de medidas relativas à conduta terapêutica e alimentar, visando reduzir a influência nociva sobre o ecossistema gastrointestinal do paciente.

As alterações que ocorrem na microbiota intestinal podem ser detectadas quando sua composição é avaliada particularmente ao nível de gêneros ou mesmo espécies bacterianas; uma vez que, quando ocorre significativa redução de determinados microrganismos (como observado neste estudo) pode haver crescimento excessivo de outros potencialmente patogênicos; assim quando avaliados em termos de anaeróbios ou aeróbios totais essas alterações podem não ser detectadas.

Os resultados deste estudo permitiram observar que são necessárias outras pesquisas, envolvendo o mesmo processo infeccioso e a mesma terapia antimicrobiana, em território nacional, uma vez que as pesquisas disponíveis para comparação, foram realizadas em países cujas condições sócio-econômicas e culturais são muito distintas das condições encontradas no Brasil; o que dificulta as análises comparativas.

Considerações Finais

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a importância da microbiota intestinal para a saúde do hospedeiro, este estudo identificou as influências que as infecções bacterianas do trato respiratório e o tratamento com amoxicilina podem desencadear sobre essa microbiota.

Entre os parâmetros avaliados neste estudo – a faixa etária, a dieta, o consumo de tabaco e álcool e as condições sócio-econômicas dos indivíduos, sugerem que os mesmos não foram capazes de promover modificações diretas sobre a microbiota intestinal.

No entanto, o processo infeccioso bacteriano do trato respiratório influenciou significativamente a composição da microbiota intestinal. Foi observada redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de microrganismos dos gêneros *Bacteroides* e *Lactobacillus* no grupo de pacientes.

A administração de amoxicilina para o tratamento das infecções bacterianas do trato respiratório também influenciou significativamente a composição da microbiota intestinal. Foi observada redução significativa na quantidade de UFC/g de fezes de microrganismos dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Assim, é importante acompanhar a influência dos processos infecciosos e do uso de antimicrobianos sobre a microbiota intestinal. Na prescrição de antimicrobianos devem ser considerados o seu espectro de ação, sua capacidade de produzir distúrbios sobre a microbiota gastrointestinal e a possibilidade de emergência de cepas resistentes.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. Finegold SM, Attebery HR, Sutter VL. Effect of diet on human fecal flora: comparison of Japanese and American diets. *Am J Clin Nutr* 1974; 27:1456-69.
2. Rao AV, Shiwnarain N, Koo M, Jenkins DJA. Effect of fiber-rich foods on the composition of intestinal microflora. *Nutr Res* 1994;14:523-35.
3. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4: 430-5.
4. Broido PW, Gorbach SL, Nyhus LM. Microflora of the gastrointestinal tract and the surgical malabsorption syndromes. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 135:449-60.
5. Simon GL, Gorbach SL. The human intestinal microflora. *Dig Dis Sci* 1986; 31:147S-62S.
6. Gibson GR, Macfarlane GT. Human colonic bacteria: role in nutrition, physiology and pathology. Boca Raton: CRC Press; 1995.
7. Salminen S, Isolauri E, Onnela T. Gut flora in normal and disordered states. *Chemotherapy* 1995; 41(Suppl 1):5-15.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *J Pediatr* 1997; 73:213-24. National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2001. 248p.

-
8. Wolin MJ. Metabolic interactions among intestinal microorganisms. *Am J Clin Nutr* 1974; 27:1320-28.
 9. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31:107-33.
 10. Mackowiak PA. The normal microbial flora. *N Engl J Med* 1982; 307: 83-93.
 11. Armstrong D, Cohen J. Host Responses to Infection. In: *Infectious Diseases*. St Louis: Mosby; 1999.
 12. Mitsuoka T. Intestinal flora and aging. *Nutr Rev* 1992; 50:438-46.
 13. Norin KE, Gustafsson BE, Lindblad BS, Midtvedt T. The establishment of some microflora associated biochemical characteristics in feces from children during the first years of life. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74:207-12.
 14. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125:1401-12.
 15. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault M-C, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau M-C, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; S148-71.

-
16. Macfarlane GT, Gibson GR, Drasar BS, Cummings JH. Metabolic significance of the gut microflora. In: Whitehead, editor. *Gastrointestinal and Oesophageal Pathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995. p. 249-74.
17. Roberfroid MB, Bornet F, Bouley C, Cummings JH. Colonic microflora: nutrition and health. *Nutr Rev* 1995; 53:127-30.
18. Cummings JH, Englyst HN. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:1243-55.
19. Cummings JH, Gibson GR, Macfarlane GT. Quantitative estimates of fermentation in the hind gut of man. *Acta Vet Scand* 1989; 86:76-82.
20. Cummings JH. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut* 1981; 22:763-79.
21. Cohen MB, Gianella RA. Bacterial infections: pathophysiology, clinical features and treatment. In: Phillips SF, Pemberton JH, Shorter RA, editors. *The large intestine: physiology, pathophysiology and disease*. New York: Raven Press; 1991. p. 395-428.
22. Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 1991; 70:443-59.
23. Gibson GR, Wang X. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J Appl Bacteriol* 1994; 77:412-20.

-
24. Eysen H, Parmentier G. Biohydrogenation of sterols and fatty acids by the intestinal microflora. *Am J Clin Nutr* 1974; 27:1329-40.
25. Moreau MC, Coste M. Immune responses to dietary protein antigens. *World Rev Nutr Dietetics*, 1993; 74: 22-57.
26. van der Waaij D. Colonization resistance of the digestive tract: Clinical consequences and implications. *J Antimicrob Chemother* 1982; 10:263-70.
27. Luckey TD. Bicentennial overview of intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1977; 30:1753-61.
28. Lidbeck A, Edlund C, Gustafsson JA, Kager R, Nord CE. Impact of *Lactobacillus acidophilus* on the normal intestinal microflora after administration of two antimicrobial agents. *Infection* 1988; 16:329-36.
29. Nielsen OH, Jorgensen S, Pedersen K, Justesen T. Microbiological evaluation of jejunal aspirates and faecal samples after oral administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *J Appl Bacteriol* 1994; 76:469-74.
30. Gorbach, SL, Spaknebel G, Weinstein L, Plaut AG, Nahas L, Levitan R. Studies of intestinal microflora. VIII. Effect of Lincomycin on the microbial population of the human intestine. *J Infect Dis* 1969; 120: 298-304.

-
31. Nordenvall B, Hallberg D, Larsson L, Nord CE. The effect of clindamycin on the intestinal flora in patients with enteric hyperoxaluria. *Scand J Gastroenterol* 1983; 18:177-81.
32. Orrhage K, Nord CE. Bifidobacteria and lactobacilli in human health. *Drugs Exp Clin Res* 2000; 26:95-111.
33. Hentges DJ. Fecal flora of volunteers on controlled diets. *Am J Clin Nutr* 1978; 31:S123-4.
34. Finegold SM, Sutter VL. Fecal flora in different populations, with special reference to diet. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: S116-22.
35. Goldin BR, Gorbach S. The effect of milk and lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 1984; 39:756-61.
36. Marteau P, Pochart P, Flourie B, Pellier P, Santos L, Desjeux J-S, Rambaud J-C. Effect of chronic ingestion of fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:685-88.
37. Haenel H. Human normal and abnormal gastrointestinal flora. *Am J Clin Nutr* 1970; 23:1433-39.

-
38. Mata LJ, Mejicanos ML, Jiménez F. Studies on the indigenous gastrointestinal flora of Guatemalan children. *Am J Clin Nutr* 1972; 25:1380-90.
39. Moore WEC, Holdeman LV. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl Microbiol* 1974; 27:961-79.
40. Finegold SM. Interaction of antimicrobial therapy and intestinal microflora. *Am J Clin Nutr* 1970; 23:1466-71.
41. Kurpad AV, Shetty PS. Effects of antimicrobial therapy of fecal bulking. *Gut* 1986; 27:55-8.
42. Bhat P, Shantakumari S, Rajan D, Mathan VI, Kapadia CR, Swarnabai C, Baker SJ. Bacterial flora of the gastrointestinal tract in southern Indian control subjects and patients with tropical sprue. *Gastroenterology* 1971; 62:11-21.
43. Eerola E, Mottonen T, Hannonen P, Luukkainen R, Kantola I, Vuori K, Tuominen J, Toivanen P. Intestinal flora in early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1994; 33:1030-8.
44. Peltonen R, Nenonen M, Helve T, Hanninen O, Toivanen P, Eerola E. Fecal microbial flora and disease activity in rheumatoid arthritis during a vegan diet. *Br J Rheumatol* 1997; 36:64-8.

-
45. Hafstrom I, Ringertz B, Spangber A, von Zweigberg L, Brannermark S, Nylander I, Ronnelid J, Laasonen L, Klareskog L. A vegan diet free of gluten improves the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: the effects on arthritis correlate with a reduction in antibodies to food antigens. *Rheumatology* 2001; 40:1175-79.
46. Toivanen P, Eerola E. A vegan diet changes the intestinal flora. *Rheumatology* 2002; 41:950-1.
47. Isolauri E. Intestinal involvement in atopic disease. *J Royal Soc Med* 1997; 90 (Suppl 30):15-20.
48. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:129-34.
49. Floor M, van Akkeren F, Rozenberg-Arska M, Visser M, Kolsters A, Beumer H, Verhoef J. Effect of loracarbef and amoxicillin on the oropharyngeal and intestinal microflora of patients with bronchitis. *Scand J Infect Dis* 1994; 26:191-7.
50. Gantz NM, Brown RB, Berk SL, Esposito AL, Gleckman RA. Sinusitis. In: *Manual of clinical problems in infectious disease*. [[Books@ovid](#)] [cited 2003 sep 4] Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. Available from: <http://pco.ovid.com/brppco/index.html>.

-
51. Breuninger CC, Wittig P, editors. Respiratory disorders. In: Diseases. [[Books@ovid](#)] [cited 2003 sep 4] Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. Available from: <http://pco.ovid.com/brppco/index.html>.
52. Jacobs MR. Emergence of antibiotic resistance in upper and lower respiratory tract infections. *Am J Manag Care* 1999; 5: S651- 61.
53. Carvalho WF. Técnicas médicas de hematologia e imuno-hematologia. 6 ed. Belo Horizonte: Coopmed;1994.
54. Graciano MIG, Lehfeld NAS, Neves Filho A. Critérios de avaliação para classificação sócio-econômica: elementos de atualização–Parte II. Franca, 1996. p. 171-201. Serie Sociedade e Realidade, 5.
55. Philipp ST, Szarfa SC, Latterga AR. Virtual Nutri software, Versão 1.0 for Windows. São Paulo: Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo; 1996.
56. Gibson, RS. Anthropometric assessment: a laboratory manual. Oxford: Oxford University Press; 1993.
57. Waitzberg DL, Ferrini MT. Exame físico e Antropometria. In: Waitzberg DL. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. 3 ed. São Paulo: Atheneu; 2000: p. 255-78.

-
58. WHO. Report of a WHO Expert Committee. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. WHO Technical Report Series, nº 854, 1995.
59. Sutter VL, Citron DM, Finegold SM, Brichnell KS. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. Department of Continuing Education in Health Sciences, University Extension, and the School of Medicine, UCLA. California: C.V. Mosby Company, 1972.
60. Barza M, Giuliano M, Jacobus NV, Gorbach SL. Effect of broad-spectrum parenteral antibiotics on 'colonization resistance' of intestinal microflora of humans. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 1987; 31: 723-27.
61. Curi PR. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. 2nd ed. Botucatu: Tipomic; 1998.
62. Luckey TD. Introduction to intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1972; 25:1292-4.
63. Midtvedt T. Microbial bile acid transformation. *Am J Clin Nutr* 1974;27:1341-47.
64. Macfarlane GT, Cummings JH, Allison C. Protein Degradation by Human Intestinal Bacteria. *J Gen Microbiol* 1986;132:1647-56.
65. Macfarlane GT, Allison C, Gibson SAW, Cummings JH. Contribution of the microflora to proteolysis in the human large intestine. *J Appl Bacteriol* 1988; 64:37-46.

-
66. Beerens H. Detection of Bifidobacteria by Using Propionic Acid as a Selective Agent. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57:2418-9.
67. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS. Microbial taxonomy. In: Bailey WR, Scott EG *Diagnostic Microbiology*. St Louis: Mosby 1998; p. 87-93.
68. Edwards C. Interactions between nutrition and the intestinal microflora. *Proc Nutr Soc* 1993; 52:375-82.
69. Bertazzoni-Minelli E, Benini A, Beghini A, Cerrutti R, Nardo G. Bacterial flora in health women of different ages. *Microbiol Ecol Health Dis* 1993; 6:43-52.
70. Speck RS, Calloway DH, Hadley WK. Human fecal flora under controlled diet intake. *Am J Clin Nutr* 1970; 23:1488-94.
71. Cummings JH, Hill MJ, Jenkins DJA, Pearson JR, Wiggins HS. Changes in fecal composition and colonic function due to cereal fiber. *Am J Clin Nutr* 1976; 29:1468-73.
72. Gorbach SL, Nahas L, Lerner PI, Weinstein L. Studies of intestinal microflora. 1. Effects of diet, age, and periodic sampling on number of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology* 1967; 53: 845-55.
73. Bornside GH. Stability of human fecal flora. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: S141- 4.

-
74. Hill MJ. Diet and the human intestinal bacterial flora. *Cancer Research* 1981; 41:3778-80.
75. Mackowiak PA, Martin RM, Jones SR, Smith JW. Pharyngeal colonization by gram-negative bacilli in aspiration-prone persons. *Arch Intern Med* 1978; 138:1224-7.
76. Mackowiak PA, Martin RM, Smith JW. The role of bacterial interference in the increased prevalence of oropharyngeal gram-negative bacilli among alcoholics and diabetics. *Annu Rev Respir Dis* 1979; 120:589-93.
77. Shinebaum R, Neumann VC, Cooke EM, Wright V. Comparison on faecal flora in patients with rheumatoid arthritis and controls. *Br J Rheumatol* 1987; 26:329-33.
78. Malin M, Verronen P, Mykkanen H, Salminen S, Isolauri E. Increased bacterial urease activity in faeces in juvenile chronic arthritis: evidence of altered intestinal microflora? *Br J Rheumatol* 1996; 35:689-94.
79. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:342-6.
80. Böttcher MF, Nordin EK, Sandin A, Midtvedt T, Björkstén B. Microflora-associated characteristics in faeces from allergic and nonallergic infants. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1590-6.

81. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamatsu H, Ikenaga T, Taijiri Y, Kumemura M. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and health control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:587-91.
82. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 2001; 1:101-14.
83. Christensson B, Nilsson-Ehle I, Ljungberg B, Nömm I, Oscarsson G, Nordström L, Goscinsky G, Löwdin E, Linglöv T, Nordström B, Denstedt-Stigzelius I, Lindhagen K, Eddlund C, Nord CE. A randomized multicenter trial to compare the influence of cefaclor and amoxicillin on the colonization resistance of the digestive tract in patient with lower respiratory tract infections. *Infection* 1991; 4:208-15.
84. Brismar B, Edlund C, Nord CE. Impact of cefpodoxime proxetil and amoxicillin on the normal oral and intestinal microflora. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12:714 – 9.
85. Edlund C, Stark C, Nord CE. The relationship between an increase in β -lactamase activity after oral administration of three new cephalosporins and protection against intestinal ecological disturbances. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34:127-38.
86. Stark CA, Adamsson I, Edlund C, Sjösted S, Seensalu R, Wikström B, Nord CE. Effects of omeprazole and amoxicillin on the human oral and gastrointestinal microflora in patients with *Helicobacter pylori* infection. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38:927-39.

-
87. Lode H, von der Höh N, Ziege S, Borner K, Nord CE. Ecological effects of linezolid versus amoxicillin/clavulanic acid on the normal intestinal microflora. *Scand J Infect Dis* 2001; 33:899-903.
88. MacCartney AL, Wenzhi W, Tannock GT. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and lactobacillus microflora of humans. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 4608-13.
89. Macfarlane GT, Gibson GR. Co-utilization of polymerized carbon sources by *Bacteroides ovatus* grow in a two-stage continuous culture system. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57:1-6.
90. Salyers AA. *Bacteroides* of the human lower intestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1984; 38:293-313.
91. Hopkins MJ, Macfarlane GT. Changes in predominant bacterial populations in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol* 2002; 51:448-54.
92. Guarner F. The colon as na organ: habitat of bacterial flora. *Nutr Hosp* 2002; 17 (Suppl 2):7-10.
93. Lidbeck A, Nord CE. Lactobacilli and the normal human anaerobic microflora. *Clin Infec Diseases* 1993; 16(Suppl 4): S181-7.

-
94. Wagner RD, Warner T, Roberts L, Farmer J, Balish E. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infect Immun* 1997; 65:3345-51.
95. Hessle C, Hanson LA, Wold AE. Lactobacilli from human gastrointestinal mucosa are strong stimulators of IL-12 production. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:276-82.
96. Isolauri E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (Suppl):S1142-6.
97. Lu L, Walker WA. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(Suppl): S1124-30.
98. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics : effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (Suppl 2): S444 - 50.
99. Vanderhoof JA. Probiotics: future directions. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(Suppl): S1152-5.

Anexos

Anexo 1**CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título: Microbiota Intestinal em Pacientes com Infecções Bacterianas do trato respiratório tratados com amoxicilina.

Justificativa: Todas as pessoas possuem alguns germes no intestino que ajudam a evitar doenças e participam de várias reações que trazem benefícios ao ser humano. Porém, quando doente ou quando são utilizados determinados remédios, o homem pode ter diminuição destes germes e assim dificultar a sua recuperação.

Objetivo: identificar a presença e a quantidade destes germes em amostras de fezes.

Procedimentos: solicitamos a sua participação neste estudo, e para isso será necessário que nos forneça pequena quantidade de fezes, sangue e algumas informações necessárias para avaliarmos a presença e a quantidade destes germes.

Com esses resultados será possível oferecer orientações relativas à alimentação, como forma de melhorar a quantidade destes germes que trazem benefícios à saúde.

Garantias: Acesso às informações sobre os procedimentos e benefícios relacionados à pesquisa; liberdade para retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízos; sigilo e privacidade.

Este Termo de Consentimento foi elaborado de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, sobre Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Paciente)

Eu,declaro que após devidamente esclarecido e informado sobre a pesquisa em questão, consinto em participar deste estudo.

Assinatura do Paciente

Pesquisador¹

¹ Maria Tereza Ferreira Duenhas Monreal

Rua Salin Kahil 409, Vila Nogueira – Botucatu/SP – CEP 18606 760 Fone: (14) 6823 4825

Anexo 2**Características Epidemiológicas****01- Identificação:**

Número do RG: _____

02- Dados pessoais:

Nome: _____

Estado civil: _____ Sexo: _____ Cor: _____

Data de nascimento: _____/_____/_____ Idade: _____

Endereço: _____ Nº: _____

Complemento: _____ Bairro: _____

Procedência: _____ Naturalidade: _____

03- Avaliação clínica

Hipótese diagnóstica: _____

Antecedentes familiares: _____

Outras doenças associadas: _____

04- Consumo de bebidas alcoólicas e tabaco

Tabagismo: () Sim Tipo: _____ Frequência: _____

() Não

Etilismo: () Sim Tipo: _____ Frequência: _____

() Não

05- Tratamento medicamentoso

Medicamentos prescritos: _____

Anexo 3

Condição Sócio-econômica

A) Condição sócio-econômica

- Renda bruta mensal:.....
- Número de membros residentes da família:.....
- Escolaridade :.....
- Habitação :.....
- Ocupação :.....

Todas estas variáveis foram pontuadas e com o sistema de pontos os indivíduos foram classificados em classes sócio-econômicas

- Sistema de pontos

Como ocupação, foi utilizada a seguinte classificação, para efeito de pontuação:

-Empresários: proprietário na agricultura, agroindústria, comércio, sistema financeiro, serviços.

-Trabalhadores da alta administração: juiz, promotor, diretor, administrador, gerente, supervisor, assessor, consultor.

-Profissionais liberais autônomos: médico, advogado, contador, arquiteto, engenheiro, dentista, representante comercial, oculista, auditor.

-Trabalhadores assalariados administrativos, Técnicos e Científicos: chefias em geral, assistentes, ocupações de nível superior, analistas, ocupações de nível médio, atletas profissionais, técnicos em geral, servidores públicos de nível superior.

-Trabalhadores assalariados: ocupações da produção, da administração (indústria, comércio, serviços, setor público e sistema financeiro), ajudantes e auxiliares.

-Trabalhadores por conta própria: pedreiros, caminhoneiros, marceneiros, feirantes, cabeleireiros, taxistas, vendedores autônomos.

-Pequenos produtores rurais: meeiros, parceiro, chacareiro.

-Empregados domésticos: jardineiros, diaristas, mensalistas, faxineiro, cozinheiro, mordomo, babá, motorista particular, atendentes.

-Trabalhadores rurais assalariados, volantes e assemelhados: ambulantes, chapa, bóia-fria, ajudantes gerais.

-Aposentados

Anexo 4
REGISTRO ALIMENTAR (TRÊS DIAS)

Nomedo Paciente: _____ **Data:** _____

Café da manhã, horário: _____

Descrição do alimento	Quantidade (g) ou medidas caseiras	Tipo de preparação	Calorias (cal)

Lanche da manhã, horário: _____

Descrição do alimento	Quantidade (g) ou medidas caseiras	Tipo de preparação	Calorias (cal)

Almoço, horário: _____

Descrição do alimento	Quantidade (g) ou medidas caseiras	Tipo de preparação	Calorias (cal)

Lanche da tarde, horário: _____

Descrição do alimento	Quantidade (g) ou medidas caseiras	Tipo de preparação	Calorias (cal)

Jantar, horário: _____

Descrição do alimento	Quantidade (g) ou medidas caseiras	Tipo de preparação	Calorias (cal)

Observações: _____

Anexo 5

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA				
Nome:				RG:
Idade:	Sexo:	Cor:	Peso Habitual:	Peso Ideal:
Altura:				
AVALIAÇÃO/DATA				
PESO				
IMC (Kg/m²)				

Anexo 6

Paciente:.....

Flora	MOMENTO 1						MOMENTO 2						MOMENTO 3					
	10 ²	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ²	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ²	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
Bact.																		
Bifido																		
Lacto																		

Flora	M 1	M 2	M3
<i>Bacteroides.</i>			
<i>Bifidobacterium</i>			
<i>Lactobacillus</i>			

Anexo 7

unespUniversidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de BotucatuDistrito Rubião Junior, s/n° - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970 - Fone/Fax: (0xx14) 6802-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.com.br
e-mail Presidência: mjbvianna@uol.com.br

Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997

Botucatu, 01 de outubro de 2.001

Of. 348/2001-CEP
MJBV/asc

Prezado Senhor,

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Microbiota intestinal em pacientes com infecções bacterianas: impacto do processo infeccioso, do tratamento e do estado nutricional**", de autoria de Maria Tereza Ferreira Duenhas Monreal, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer **favorável**, aprovado em reunião de 01/10/2001.

Sendo só para o momento, aproveito o ensejo para renovar os protestos de elevada estima e distinta consideração.

Alberto Santos Capellupi
Secretário do CEP**Ilustríssimo Senhor**
Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira
Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por
Imagem da Faculdade de Medicina de Botucatu

APÊNDICES

Apêndice 1

Quadro 1 – Contagem de *Bacteroides*. Valores individuais no Grupo GC (M_0) e no Grupo G1 nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

<i>BACTEROIDES</i>				
Indivíduos	GC		G1	
	M_0	M_1	M_2	M_3
1	$1,50 \times 10^{12}$	$3,59 \times 10^{10}$	$4,46 \times 10^{10}$	$1,42 \times 10^{11}$
2	$2,49 \times 10^{11}$	$4,00 \times 10^6$	$4,48 \times 10^9$	$3,97 \times 10^9$
3	$3,73 \times 10^{11}$	$8,52 \times 10^8$	$4,56 \times 10^9$	$2,77 \times 10^{10}$
4	$4,98 \times 10^{11}$	$7,30 \times 10^{10}$	$1,34 \times 10^{10}$	$1,08 \times 10^{11}$
5	$9,02 \times 10^{10}$	$3,47 \times 10^9$	$4,42 \times 10^9$	$4,10 \times 10^9$
6	$6,43 \times 10^{10}$	$1,88 \times 10^{10}$	$4,29 \times 10^{10}$	$1,64 \times 10^{10}$
7	$2,31 \times 10^{11}$	$7,93 \times 10^9$	$1,36 \times 10^{10}$	$6,72 \times 10^9$
8	$1,85 \times 10^{10}$	$1,28 \times 10^{10}$	$6,72 \times 10^{10}$	$6,77 \times 10^{10}$
9	$2,15 \times 10^{11}$	$8,07 \times 10^9$	$6,53 \times 10^9$	$8,35 \times 10^9$
10	$4,56 \times 10^{10}$	$8,65 \times 10^9$	$1,37 \times 10^{10}$	$1,62 \times 10^{10}$
11	$2,04 \times 10^{10}$	$3,09 \times 10^{10}$	$2,65 \times 10^{10}$	$2,57 \times 10^{11}$
12	$5,33 \times 10^9$	$1,64 \times 10^9$	$1,24 \times 10^{11}$	$1,42 \times 10^{10}$
13	$1,22 \times 10^{11}$	$1,36 \times 10^{11}$	$3,27 \times 10^{11}$	$1,43 \times 10^{11}$
14	$2,24 \times 10^{10}$	$8,07 \times 10^{10}$	$2,44 \times 10^{11}$	$3,63 \times 10^{10}$
15	$1,68 \times 10^{10}$	$6,08 \times 10^{10}$	$1,06 \times 10^{11}$	$6,38 \times 10^{10}$
16	$2,15 \times 10^{11}$	$1,58 \times 10^{11}$	$2,00 \times 10^{11}$	$2,10 \times 10^{11}$
17	$2,47 \times 10^{11}$	$2,50 \times 10^{10}$	$9,97 \times 10^9$	$8,09 \times 10^9$
18	$6,75 \times 10^{10}$	$1,59 \times 10^{11}$	$5,90 \times 10^{10}$	$2,70 \times 10^{11}$
19	$2,29 \times 10^{10}$	$3,52 \times 10^{11}$	$1,27 \times 10^{11}$	$7,70 \times 10^{10}$
20	$1,88 \times 10^9$	$5,73 \times 10^{10}$	$8,24 \times 10^{10}$	$5,51 \times 10^{10}$
21		$9,29 \times 10^{10}$	$1,72 \times 10^{11}$	$2,11 \times 10^{10}$
22		$2,92 \times 10^{10}$	$2,62 \times 10^{11}$	$2,49 \times 10^{11}$

Apêndice 2

Quadro 2 – Contagem de *Bifidobacterium*. Valores individuais no grupo GC (M_0) e no grupo G1 nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

<i>BIFIDOBACTERIUM</i>				
Indivíduos	GC		G1	
	M_0	M_1	M_2	M_3
1	$1,78 \times 10^{11}$	$2,11 \times 10^{10}$	$8,27 \times 10^8$	$1,81 \times 10^{10}$
2	$2,26 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^9$	$2,78 \times 10^9$	$7,77 \times 10^9$
3	$2,57 \times 10^9$	$1,75 \times 10^8$	$5,8 \times 10^7$	$9,24 \times 10^8$
4	$1,25 \times 10^{10}$	$9,65 \times 10^8$	$4,6 \times 10^8$	$6,10 \times 10^9$
5	$6,43 \times 10^9$	$3,52 \times 10^8$	$7,2 \times 10^8$	$4,10 \times 10^9$
6	$5,80 \times 10^{10}$	$2,67 \times 10^9$	$5,48 \times 10^8$	$8,00 \times 10^9$
7	$2,92 \times 10^{10}$	$7,68 \times 10^8$	$1,68 \times 10^8$	$8,28 \times 10^8$
8	$2,30 \times 10^{10}$	$9,14 \times 10^9$	$6,66 \times 10^9$	$6,77 \times 10^9$
9	$6,42 \times 10^{10}$	$3,0 \times 10^9$	$3,83 \times 10^9$	$1,57 \times 10^{10}$
10	$7,85 \times 10^8$	$3,89 \times 10^{10}$	$1,52 \times 10^{10}$	$2,87 \times 10^{10}$
11	$7,04 \times 10^9$	$3,43 \times 10^{10}$	$7,34 \times 10^8$	$2,78 \times 10^{10}$
12	$5,87 \times 10^8$	$9,99 \times 10^9$	$1,81 \times 10^9$	$6,15 \times 10^9$
13	$7,22 \times 10^{10}$	$1,42 \times 10^9$	$1,98 \times 10^8$	$2,00 \times 10^8$
14	$1,06 \times 10^8$	$3,09 \times 10^{10}$	$3,88 \times 10^9$	$1,64 \times 10^{10}$
15	$3,14 \times 10^8$	$6,84 \times 10^9$	$5,27 \times 10^9$	$1,11 \times 10^{10}$
16	$8,99 \times 10^9$	$2,55 \times 10^9$	$1,81 \times 10^{10}$	$4,84 \times 10^{10}$
17	$4,21 \times 10^{10}$	$5,25 \times 10^{10}$	$8,53 \times 10^9$	$2,27 \times 10^{10}$
18	$2,43 \times 10^{10}$	$6,33 \times 10^9$	$2,5 \times 10^{10}$	$1,07 \times 10^9$
19	$4,75 \times 10^8$	$2,89 \times 10^8$	$2,70 \times 10^8$	$1,56 \times 10^9$
20	$4,47 \times 10^9$	$3,96 \times 10^9$	$3,23 \times 10^9$	$1,20 \times 10^9$
21		$2,05 \times 10^{10}$	$4,00 \times 10^8$	$1,64 \times 10^9$
22		$2,25 \times 10^9$	$6,75 \times 10^{10}$	$2,26 \times 10^{11}$

Apêndice 3

Quadro 3 – Contagem de *Lactobacillus*. Valores individuais no Grupo GC (M_0) e no Grupo G1 nos três momentos experimentais: antes do tratamento (M_1), no final do tratamento (M_2) e trinta dias após o tratamento (M_3). Botucatu-SP, 2002.

LACTOBACILLUS				
Indivíduos	GC		G1	
	M_0	M_1	M_2	M_3
1	$5,26 \times 10^9$	$5,35 \times 10^{10}$	$8,27 \times 10^8$	$1,81 \times 10^{10}$
2	$9,35 \times 10^8$	$1,00 \times 10^5$	$5,70 \times 10^6$	$1,10 \times 10^8$
3	$3,05 \times 10^8$	$3,10 \times 10^6$	$1,40 \times 10^7$	$1,22 \times 10^8$
4	$1,10 \times 10^9$	$2,50 \times 10^8$	$3,60 \times 10^9$	$4,28 \times 10^9$
5	$1,26 \times 10^8$	$2,78 \times 10^7$	$3,00 \times 10^7$	$1,72 \times 10^9$
6	$1,85 \times 10^9$	$5,33 \times 10^8$	$1,63 \times 10^8$	$4,33 \times 10^9$
7	$1,14 \times 10^{10}$	$1,82 \times 10^7$	$8,20 \times 10^6$	$5,67 \times 10^7$
8	$7,15 \times 10^9$	$3,76 \times 10^8$	$8,44 \times 10^6$	$1,33 \times 10^9$
9	$1,94 \times 10^{10}$	$6,59 \times 10^6$	$1,53 \times 10^9$	$1,02 \times 10^{10}$
10	$3,58 \times 10^8$	$2,79 \times 10^{10}$	$4,37 \times 10^9$	$3,00 \times 10^{10}$
11	$3,91 \times 10^9$	$2,64 \times 10^9$	$1,04 \times 10^8$	$3,25 \times 10^9$
12	$1,05 \times 10^8$	$5,06 \times 10^7$	$1,34 \times 10^7$	$6,04 \times 10^7$
13	$5,09 \times 10^9$	$9,30 \times 10^7$	$1,15 \times 10^6$	$4,36 \times 10^8$
14	$4,13 \times 10^7$	$7,82 \times 10^8$	$4,25 \times 10^8$	$9,90 \times 10^8$
15	$3,16 \times 10^8$	$1,47 \times 10^{10}$	$5,33 \times 10^9$	$3,69 \times 10^{10}$
16	$1,88 \times 10^9$	$1,04 \times 10^8$	$6,06 \times 10^9$	$1,04 \times 10^{10}$
17	$5,29 \times 10^9$	$8,55 \times 10^6$	$8,16 \times 10^8$	$3,99 \times 10^9$
18	$4,14 \times 10^9$	$1,46 \times 10^8$	$1,00 \times 10^5$	$3,52 \times 10^6$
19	$7,81 \times 10^6$	$1,70 \times 10^7$	$4,90 \times 10^6$	$1,29 \times 10^7$
20	$1,31 \times 10^7$	$5,00 \times 10^7$	$2,20 \times 10^6$	$4,50 \times 10^5$
21		$2,33 \times 10^9$	$1,36 \times 10^8$	$1,37 \times 10^9$
22		$1,47 \times 10^9$	$9,35 \times 10^8$	$1,57 \times 10^9$