

ÂNGELA MARA PINTO DA SILVA

**Efeito da levofloxacina na microbiota intestinal
de pacientes com pneumonia adquirida na
comunidade**

BOTUCATU

2008

ÂNGELA MARA PINTO DA SILVA

**Efeito da levofloxacina na microbiota intestinal
de pacientes com pneumonia adquirida na
comunidade**

Dissertação para o programa de pós-graduação em
Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de
Botucatu - UNESP

Orientador:

Prof . Adjunto Paulo Câmara Marques Pereira

BOTUCATU

2008

A DEUS

Meu sustentáculo e minha fortaleza em todos os momentos da vida; que mesmo eu sendo infiel em muitos momentos, Ele permanece fiel. A Ele entrego esta realização.

Aos meus pais Eny e Carlos (in memorium)

Que me deram vida e amor. Especialmente à minha mãe pelo exemplo, formação e certeza do seu amor incondicional.

Ao Amauri

Meu amor e companheiro há tantos anos. Seu amor, carinho, paciência, cumplicidade e compreensão são muito importantes à minha vida.

Aos meus filhos Amauri Júnior e Mariangela

Que representam para mim o verdadeiro significado do amor: abnegação, doação, dedicação e desprendimento. Amor imensurável.

À minha neta Júlia

Continuidade da vida e esperança que ocupa lugar especial no meu coração

À Nádia, Carmem, Márcia e Márcio

Que formam comigo uma forte corrente de amor e fraternidade.

A vocês dedico este trabalho e agradeço a Deus por fazerem parte da minha vida.

"... a fé, a esperança e o amor, estes três; porém o maior destes é o amor."

I Coríntios 13:13

Ao Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira

Por seu estímulo, orientação e confiança que me assumiu como orientanda, mesmo sem me conhecer. Sua sabedoria, competência e paciência mostraram ser possíveis exercer o amor em todos os atos. Tenha certeza que lhe serei eternamente grata.

À Prof^a Dra. Jussara Marcondes Machado

Pessoa especial nessa jornada. Seu apoio, carinho e incentivo, além do conhecimento extremado e intenção de sempre compartilhá-lo, ficarão guardados para sempre no meu cérebro e coração.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Corrente

Pela simpatia e competência com que fez as análises estatísticas.

Ao Dr. Marcelo Silva, Dr. Ronaldo Perches Queiroz, Dr. Éderson Fernandes, Dr. Orrélio Justiniano Rocha e Dr. Maurício Longo Galhardo

Que colaboraram encaminhando os pacientes.

Aos pacientes

Mesmo debilitados mostravam-se compreensivos com minha presença. Sem a colaboração deles não seria possível a realização desse trabalho.

Aos doadores de sangue

Pela atenção, colaboração e compreensão da importância do trabalho.

À Manu

Sobrinha querida e especial pelo carinho com que fez a tradução do resumo.

À Prof^a Dra. Nancy

Amiga querida que colaborou com a leitura, sugestões e revisão do texto.

Ao Moacir

Técnico do laboratório de Microbiologia que me ajudou na realização dos experimentos.

À Solange, Patrick e Michele

Funcionários do Departamento de Doenças Tropicais que sempre me atenderam com carinho e atenção.

À Juliana

Funcionária do GAP, sempre pronta a me ajudar quando necessitei.

À Márcia

Que cuidou de minha família e casa enquanto eu ficava em Botucatu.

Ao Fernando

Sempre pronto a me acompanhar nas idas e vindas de Botucatu, mesmo quando muito cansado.

Ao Moises

Funcionário da biblioteca da UNIMEP – Lins que sempre atendeu meus pedidos de encaminhamento de artigos por e-mail, me poupando tempo de buscá-los.

À Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP

Por ter disponibilizado o laboratório, onde pude realizar todos os experimentos deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Polo Marchese

Pela compreensão, nos momentos em que precisei estar ausente do trabalho, para freqüentar aulas.

A todos vocês muito obrigada. Por mais que eu queira retribuir o meu carinho será pouco. A verdadeira retribuição virá de Deus.

"E não nos cansemos de fazer o bem, porque a seu tempo ceifaremos, se não desfalecermos." Gálatas 6:9

SUMÁRIO

Resumo	<i>vii</i>
Abstract	<i>x</i>
Introdução	1
Objetivos	10
Casuística e Métodos	12
Resultados	19
Discussão	38
Considerações Finais	47
Referências Bibliográficas	49
Anexos	61
Apêndices	63

RESUMO

Silva AMP. Efeito da levofloxacina na microbiota intestinal de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade – Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Resumo

O trato gastrointestinal é um complexo ecossistema que associa uma microbiota residente e células de vários fenótipos alinhadas na parede epitelial que expressam complexa atividade metabólica. A microbiota pode ser alterada durante o processo infeccioso e/ou a utilização de medicamentos, o que pode interferir com a digestão e absorção de nutrientes, a rápida resposta imune contra patógenos, a estimulação e a maturação do sistema imune. O desequilíbrio deste ecossistema altera a população de microrganismos, principalmente os dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* da microbiota intestinal, ocasionando diversos prejuízos para o hospedeiro. Assim, este estudo teve como objetivo verificar a influência da pneumonia adquirida na comunidade e a monoterapia com levofloxacina, por via oral, sobre a microbiota intestinal normal do paciente. Por meio de análises microbiológicas das fezes de 15 pacientes estudados, verificou-se que a pneumonia adquirida na comunidade afetou a microbiota intestinal reduzindo a população de *Lactobacillus* e *Bacteroides*. O tratamento com levofloxacina alterou a população de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* que, no entanto, 30 dias após o término do antimicrobiano a microbiota intestinal dos pacientes retornou ao normal. Uma vez que a incidência de pneumonia adquirida na comunidade é alta e que o antimicrobiano mais utilizado para o seu tratamento é a levofloxacina, é importante que se conheçam as alterações impostas pelo antimicrobiano na microbiota intestinal dos indivíduos doentes, para que se tomem medidas que minimizem os efeitos prejudiciais decorrentes dessas alterações.

Palavras-chave: microbiota intestinal, levofloxacina, pneumonia, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*

ABSTRACT

Silva AMP. Effect of levofloxacin in intestinal microbiota of patients with community acquired pneumonia – Dissertation (masters). Botucatu School of Medicine, Paulista State University, 2008.

Abstract

The gastrointestinal tract is a complex ecosystem that associates resident microbiota and different phenotypes cells aligned in epithelial wall that means complex metabolic activity. The microbiota can be changed during the infectious process and/or medicines use, it can be interfered with foods digestion and nutrients absorption, the quick answer immune against pathogens, the stimulation and the immune maturation system. The imbalance of this ecosystem alters the microorganisms population, mostly the *Bacteroides*, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* genus of intestinal microbiota can represent many damages for host. So, this study has a target to verify the influence of community acquired pneumonia in the and monotherapy with levofloxacin, by oral administration, on normal intestinal microbiota of the patient. Through microbiological analysis of 15 patients stool, it could be verified that community acquired pneumonia affected a intestinal microbiota leading to decreasing *Lactobacillus* and *Bacteroides* population. The treatment with levofloxacin changed the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* population that, however, 30 days after the end of the antimicrobial the intestinal microbiota returned to normal. Once that the incidence of community acquired pneumonia is high and the most used antimicrobial for its treatments is levofloxacin it is important that you have knowledge of imposed changes by antimicrobial in intestinal microbiota of ill patients, and the right decisions should be made to minimize harmful effects of this changes.

Keywords: microbiota intestinal, levofloxacin, pneumonia, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal é um complexo ecossistema que associa a microbiota residente e células de vários fenótipos que alinhadas na parede epitelial expressam uma complexa atividade metabólica ⁽¹⁾. De acordo com Savage, a microbiota é a população de bactérias reunidas na superfície do corpo e das mucosas. A designação microbiota normal denota espécies comumente encontradas em indivíduos saudáveis ⁽²⁾.

A microbiota intestinal compreende uma mistura de micróbios, cuja composição difere ao longo do trato gastrointestinal e do lúmen ⁽³⁾. Diferentes comunidades microbianas podem ser localizadas no lúmen intestinal, no muco que recobre o epitélio, nas criptas intestinais ou em diferentes células do epitélio, estando algumas aderidas e outras não ⁽¹⁾.

O complexo ecossistema do trato gastrointestinal é formado pelo epitélio, células imunes e microbiota residente. Esses três componentes têm evoluído de modo que um depende da presença dos outros dois para realizarem as funções e atividades normais ⁽⁴⁾.

Vários fatores controlam a estabilidade e mudanças na microbiota dos indivíduos de uma população. Estes incluem o pH intestinal, interações microbianas, temperatura ambiental, fatores fisiológicos, peristaltismo, ácidos biliares, secreções do hospedeiro, resposta imune, terapia com drogas e receptores bacterianos na mucosa ⁽⁵⁾.

Embora as bactérias estejam distribuídas ao longo das alças intestinais, a maior concentração de micróbios e atividade metabólica é encontrada no intestino grosso ^(6, 7). O intestino superior é apenas levemente colonizado, mas, a partir do íleo, a concentração bacteriana aumenta gradualmente, chegando a atingir $10^{11} - 10^{12}$ unidades formadoras de colônias (UFC) por grama, no cólon. Cerca de 500 espécies podem estar presentes no intestino grosso do adulto; estima-se que 35 – 50% delas estão no cólon humano ⁽³⁾.

A atividade e composição da microbiota intestinal variam de acordo com o tipo de parto, local do intestino, idade, dieta, genótipo do indivíduo, modulação bacteriana e o ambiente do hospedeiro ^(3, 8, 9, 10).

A composição da microbiota intestinal é, primariamente, determinada pela idade, dieta e condições culturais ⁽¹¹⁾. Zoetendal e colaboradores demonstraram que a comunidade bacteriana do intestino é influenciada não só por fatores ambientais, mas também genéticos, pois a população de bactérias encontrada em fezes de gêmeos monozigotos foi mais similar do que a de indivíduos que conviviam no mesmo ambiente ou a de cônjuges ⁽¹²⁾.

Apesar das variações na composição da microbiota entre os indivíduos, há uma estabilidade funcional que permite que os microrganismos executem mecanismos básicos como reações bioquímicas, incluindo a degradação de carboidratos, fermentação e síntese de vitaminas ⁽¹³⁾.

O trato gastrointestinal do feto é estéril. Imediatamente após o nascimento tem início a colonização intestinal por bactérias ⁽¹⁴⁾. As primeiras aeróbias e anaeróbias a colonizarem o intestino originam-se da microbiota vaginal e intestinal da mãe, como a *Escherichia coli*, *Clostridium* spp, *Streptococcus* spp, *Lactobacillus* spp, *Bacteroides* spp e *Bifidobacterium* spp ⁽⁴⁾. No parto por cesariana a primeira exposição é a micróbios do meio ambiente: bactérias maternas, dos equipamentos, do ar e de outras crianças, estas últimas transmitidas pela enfermagem. Nessas crianças o estabelecimento de uma microbiota estável ocorre mais tardiamente ⁽¹⁰⁾. Esta exposição inicial alterada não pode afetar a microbiota intestinal e seu desenvolvimento ⁽¹⁵⁾.

O estabelecimento da microbiota do intestino é considerado um processo formado por estágios, sendo os primeiros colonizadores as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativos, tais como coliformes, lactobacilos e estreptococos que são rapidamente sucedidos por bifidobactérias ^(3, 4). Acredita-se que essa colonização ocorra devido ao baixo potencial de óxido-redução no intestino que permite também o estabelecimento de *Bacteroides* ⁽⁴⁾. Todos os componentes do ecossistema gastrointestinal são necessários para o desenvolvimento das funções específicas do intestino ⁽⁴⁾.

A colonização do intestino do recém-nascido é um complexo processo, mas no segundo ano de vida, a microbiota intestinal é considerada idêntica a dos adultos e tende a ser estável durante toda a vida ^(9, 16, 17, 18). Cerca de 97% das espécies são anaeróbias e 3% anaeróbias facultativas. Considera-se saudável a microbiota intestinal na qual exista grande participação de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* que são microrganismos que não apresentam fatores de virulência para o homem e por isso são as principais representantes das bactérias benéficas ^(1, 19, 20, 21, 22).

A microbiota do intestino humano inclui microrganismos transitórios e indígenas. Os indígenas, algumas vezes, têm sido classificados como potencialmente prejudiciais ou benéficos; muitos deles constituem parte da microbiota comensal ⁽²³⁾. As espécies comensais se aproveitam do ambiente intestinal, rico em nutrientes, contudo, sua presença não traz conseqüências benéficas para o hospedeiro. A microbiota intestinal também abriga patógenos oportunistas com potencial para causar doenças se as defesas do hospedeiro estiverem comprometidas ⁽²⁴⁾. O equilíbrio no ecossistema intestinal é indispensável à saúde do indivíduo e os efeitos benéficos ocorrem quando há simbiose da microbiota com o hospedeiro. O papel de comensal ocorre pelo controle exercido pelas espécies bacterianas e por mecanismos reguladores do hospedeiro ⁽¹⁰⁾.

As bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são as mais freqüentemente encontradas e algumas delas exibem poderosas propriedades antiinflamatórias ⁽²³⁾. Também se atribui aos membros desses gêneros outras atividades benéficas, tais como estimulação da resposta imune e exclusão competitiva de patógenos, enquanto que a resistência não específica do hospedeiro a micróbios patogênicos é promovida. Microrganismos do gênero *Bacteroides* são capazes de desempenhar ações benéficas e maléficas ⁽²⁵⁾. O estabelecimento da microbiota fornece ao hospedeiro, antígenos com fortes efeitos estimulatórios para a maturação do tecido linfóide associado ao intestino ^(26, 27).

Bactérias dos gêneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* são importantes na manutenção da integridade intestinal e conseqüentemente para a saúde do hospedeiro.

O gênero *Bifidobacterium* é o maior grupo de bactérias no cólon, o qual constitui mais de 25% do total da população intestinal adulta. Promove diversos efeitos

benéficos ao hospedeiro, tais como: fermentação de substratos, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta; redução do pH que exerce ação bactericida; diminuição dos níveis séricos de amônia pela fermentação de proteínas; participação na produção de vitaminas do complexo B e influência na resposta imune ⁽²⁸⁾.

Lactobacillus possuem propriedades benéficas como fermentação do leite e capacidade de inibir o crescimento de vários patógenos, através da competição na aderência ao epitélio intestinal ou pela produção de substâncias inibitórias, tais como: ácidos láctico e acético que baixam o pH, peróxido de hidrogênio que inibe o crescimento de fungos, bacteriocinas, β -hidroxipropionaldeído e outros compostos não identificados ^(29, 30). Além disso, os *Lactobacillus* estimulam o sistema imune, induzindo a produção de IL-12 por células mononucleadas do sangue periférico. Eles também são capazes de converter o colesterol em coprostanol que é menos solúvel e pode ser excretado, impedindo a absorção e diminuindo sua concentração no plasma ⁽²⁹⁾.

Membros do gênero *Bacteroides* utilizam uma ampla variedade de diferentes fontes de carbono, conseqüentemente, são responsáveis pela maioria da digestão dos polissacarídeos que ocorrem no cólon ^(13, 31, 32). Bartosch e colaboradores, em 2004, relatam que a redução nesse grupo bacteriano nutricionalmente importante pode ter conseqüências no metabolismo bacteriano e na complexa cadeia de espécies que suportam a microbiota colônica ⁽³¹⁾.

As células epiteliais do intestino com seu complexo funcional, a camada de muco, o lúmen e as bactérias associadas à mucosa fornecem uma barreira física seletiva, entre o lúmen e a via sistêmica: embora, permitam a absorção de água, eletrólitos e nutrientes, impedem o transporte dos produtos microbianos prejudiciais ⁽²⁴⁾.

A atividade metabólica da microbiota intestinal está envolvida na fermentação de carbono endógeno e exógeno e, como fonte de energia. A fermentação de diferentes tipos de oligossacarídeos é benéfica para o hospedeiro, pois fornece energia adicional na forma de cadeia curta de ácidos graxos. Desses, o ácido butírico é a principal fonte de energia para o epitélio intestinal e é importante para manter a saúde do cólon ⁽²⁷⁾. A microbiota intestinal melhora a digestão e absorção de nutrientes pelo aumento da área da superfície intestinal e, por meio da fermentação de componentes alimentares não digeríveis, como o amido e fibras, libera energia para o hospedeiro.

A presença de bactérias no intestino promove o estabelecimento de uma população residente de imunócitos, criando no epitélio intestinal um espaço de “inflamação fisiológica” que é requerida para uma rápida resposta imune contra patógenos invasores⁽²⁴⁾. A microbiota intestinal fornece um importante estímulo para a maturação do sistema imune. No nascimento, o sistema imune é imaturo e se desenvolve após exposição aos micróbios; o número de placas de Peyer e células produzindo imunoglobulina A aumentam na sua presença, promovendo a barreira imunológica da mucosa intestinal⁽³⁾.

Bactérias intestinais também previnem infecções de patógenos invasores pela competição por nutrientes, espaço, receptores do hospedeiro e pela secreção de substâncias antimicrobianas como: colicinas e piocinas^(24, 33, 34). Colicinas são antibióticos derivados de *Escherichia coli*, *Shigella* spp e *Salmonella* spp, enquanto que piocinas são produzidas por *Pseudomonas aeruginosa*. Esses compostos são altamente específicos e inibem apenas poucas cepas bacterianas. Cepas colicinogênicas nunca são sensíveis às colicinas produzidas^(33, 34). Outros mecanismos de competição e inibição bacteriana incluem pH ou troca do potencial redox e a produção de metabólitos tóxicos, tais como, peróxido de hidrogênio⁽³⁵⁾.

Os gêneros microbianos presentes no intestino de adultos parecem ser particularmente estáveis, com níveis regulares de espécies apresentando poucas variações^(34, 37). Porém, alguns locais podem ser continuamente colonizados com novos micróbios⁽³⁾.

Apesar de ser estável, a composição da microbiota intestinal de adultos, até certo ponto, pode ser modificada por fatores tais como a dieta, doenças e tratamento com drogas que podem alterar a sua composição e causar doenças ou desconforto intestinal^(3, 24). Os distúrbios da microbiota são freqüentemente associados com diarreia, glossite e prurido, assim como infecções fúngicas⁽³⁸⁾. Além disso, infecções secundárias podem ocorrer⁽³⁹⁾.

Estudos epidemiológicos têm relacionado a alteração da composição da microbiota intestinal com o desenvolvimento de eczema, artrite e doenças alérgicas⁽²⁴⁾.

O uso de agentes antimicrobianos causa distúrbios no equilíbrio ecológico entre o hospedeiro e microrganismos, podendo levar a uma dramática mudança na composição e atividade da microbiota intestinal, contribuindo para o crescimento

excessivo de certos membros ⁽⁴⁰⁾. Importantes bactérias anaeróbias do intestino, tais como: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ou *Bacteroides* podem ser radicalmente reduzidas, ou erradicadas, durante o tratamento e microrganismos patogênicos podem proliferar ⁽³¹⁾.

A extensão do distúrbio depende da natureza do antimicrobiano, absorção, via de eliminação e a possível inativação enzimática e/ou ligação ao material fecal. O prognóstico sobre o efeito do antimicrobiano na microbiota pode ser difícil devido à complexa relação entre seus componentes ^(11, 39). Outra importante e crescente área de preocupação é o efeito de antibióticos na resistência dos membros da microbiota indígena, resultando no aparecimento de cepas resistentes entre pacientes e a disseminação de determinantes de resistência entre os microrganismos ⁽⁴⁰⁾.

Em muitas situações é essencial a administração de antibióticos, sendo necessário identificar os mínimos efeitos adversos do antimicrobiano, assim como o máximo de potencial benéfico. O indicado é selecionar o agente antimicrobiano que não cause distúrbios à colonização de micróbios resistentes, mas isso nem sempre é possível ⁽³⁹⁾.

A influência dos antimicrobianos na microbiota intestinal é transitória, mas pode persistir por algum período após o término do uso ⁽⁴¹⁾. A redução da população bacteriana intestinal pode ocasionar alterações imunológicas entre outras, as quais dependem muitas vezes da concentração da droga no lúmen intestinal e de seu espectro de ação. É difícil avaliar a participação da doença como fator associado nessas alterações ⁽⁴²⁾. A influência de processos infecciosos e agentes antimicrobianos no ecossistema gastrointestinal é muito importante, já que a microbiota tem funções que afetam a saúde do hospedeiro ⁽²⁹⁾.

As doenças respiratórias estão entre as mais frequentes no mundo e ocorrem em todas as sociedades, apesar de seus níveis de desenvolvimento ou riqueza e são comuns em todos os grupos etários e setores da população. Estima-se que as doenças respiratórias são causa de 19% ou 10,5 milhões de mortes no mundo e responsáveis por mais de 30% dos atendimentos de pacientes que procuram os serviços primários de saúde ⁽⁴³⁾. Pneumonia e outras infecções respiratórias agudas são as principais causas de morbidade e mortalidade entre adultos ⁽⁴⁴⁾.

A etiologia da pneumonia adquirida na comunidade (PAC) em pacientes de ambulatório tem sido pouco estudada ⁽⁴⁵⁾. Além disso, nenhum agente etiológico é

encontrado em 50% dos casos, quando extensivos testes diagnósticos são realizados⁽⁴⁶⁾. Dos casos em que o agente etiológico é identificado, *Streptococcus pneumoniae* é responsável por aproximadamente 66% de todos os casos de pneumonia bacteriana. Embora o *Streptococcus pneumoniae* seja a causa mais comum de PAC, patógenos atípicos são isolados em proporções significantes em pacientes com essa doença^(47, 48). Outros patógenos implicados na etiologia são *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Kebsiella pneumoniae* e outros bacilos Gram-negativos⁽⁴⁹⁾.

O diagnóstico precoce rápido e a terapia antimicrobiana empírica apropriada são essenciais para o controle efetivo da PAC. O diagnóstico é baseado em sinais e sintomas, tais como febre, tosse, dispnéia, aumento da velocidade respiratória e produção de escarro, assim como sinais clínicos de consolidação demonstrados por trocas radiográficas⁽⁵⁰⁾.

Mais de 80% dos adultos com PAC são tratados ambulatorialmente. A maioria dos tratamentos de PAC é empírica. Portanto, um tratamento com antibiótico deve dar cobertura a patógenos típicos e atípicos^(48, 51). As fluoroquinolonas seguem os critérios do esquema de recomendações do *Council for Appropriate and Rational Antibiotic Therapy* e em geral são excelentes drogas, com ótimas dosagens para o tratamento com antibióticos em pacientes com PAC⁽⁵¹⁾. Novas fluoroquinolonas, como a levofloxacina, têm se tornado a droga de escolha para o tratamento das infecções do trato respiratório baixo, notavelmente, a PAC^(51, 52, 53, 54, 55, 56). A levofloxacina é geralmente bem tolerada e os efeitos adversos são usualmente médios, com náusea e diarreia sendo os mais frequentes^(51, 57). O tratamento da PAC com levofloxacina se faz com 500 mg/dia, por via oral, durante 7 a 10 dias ou 750 mg/dia por cinco dias^(55, 58, 59). As fluoroquinolonas são antimicrobianos de amplo espectro que exibem altos níveis de penetração nos pulmões e baixos níveis de resistência⁽⁵¹⁾.

As quinolonas são agentes antimicrobianos bactericidas que atuam na DNA-girase da bactéria^(52, 56). Modificações no núcleo das quinolonas aperfeiçoaram a potência e espectro de atividade antimicrobiana levando ao desenvolvimento de novos compostos⁽⁵⁶⁾.

Considerando a grande importância das bactérias dos gêneros: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* na manutenção da saúde do hospedeiro humano é de grande relevância verificar as mudanças na quantidade desses microrganismos nas fezes de indivíduos com pneumonia adquirida na comunidade tratados com levofloxacina.

Nesse sentido, uma vez que a incidência de pneumonia adquirida na comunidade é alta e que o antimicrobiano mais utilizado para o seu tratamento é a levofloxacina, é muito importante saber se a microbiota intestinal dos indivíduos é afetada pela doença e pelo antimicrobiano, para que se possam tomar medidas no sentido de minimizar os possíveis efeitos prejudiciais para o organismo.

OBJETIVOS

Objetivo Geral:

- Verificar a influência da pneumonia adquirida na comunidade e da monoterapia com levofloxacina, por via oral, sobre a microbiota intestinal normal do paciente.

Objetivos específicos:

- Isolar e quantificar as bactérias anaeróbias intestinais dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* nas fezes de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade.
- Avaliar a influência do processo infeccioso sobre a microbiota intestinal.
- Avaliar a influência do tratamento com levofloxacina, por via oral, sobre a microbiota intestinal.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. CASUÍSTICA:

Foi realizado estudo prospectivo, no período de junho de 2006 a agosto de 2007, envolvendo 15 pacientes com pneumonia adquirida na comunidade, triados por médicos pneumologistas da cidade de Lins, SP e como grupo controle, 15 doadores de sangue, do Hemonúcleo desta cidade. O município de Lins localiza-se na região noroeste do Estado de São Paulo, tem área de 572,90 Km² e população de 71.382 habitantes, em 2006.

2. MÉTODOS:

2.1 Critérios de inclusão: pacientes com diagnóstico epidemiológico, clínico e por imagem de pneumonia adquirida na comunidade; com prescrição de levofloxacina; de ambos os sexos; com idade superior a 18 anos e que não estejam utilizando medicamentos.

2.2 Critérios de exclusão: mulheres grávidas, lactantes e com desordens hormonais, indivíduos com doenças crônicas 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 15 indivíduos normais, doadores de sangue, de ambos os sexos e com idade superior a 18 anos, triados no Hemonúcleo da Santa Casa de Misericórdia de Lins, Lins, SP. Estes indivíduos não fizeram uso de antimicrobianos nos últimos 30 dias.
- **Grupo de pacientes (GP)** → constituído por 15 pacientes, selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos, tendo pneumonia adquirida na comunidade.

Os participantes de ambos os grupos foram esclarecidos quanto aos detalhes referentes à realização do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre

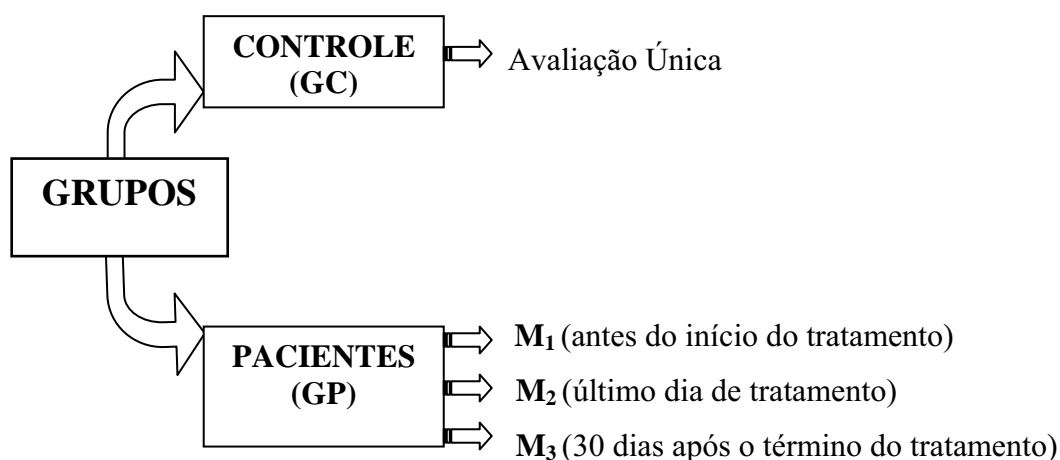
Esclarecido, elaborado conforme Resolução nº 196/96 sobre “Pesquisa Envolvendo Seres Humanos”, do Conselho Nacional de Saúde/MS (apêndice 01).

2.4 Delineamento do Estudo

Para a avaliação da microbiota intestinal dos indivíduos do Grupo Controle (GC), realizou-se cultura de fezes, feita apenas uma vez, para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

O grupo de pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade foi avaliado nos seguintes momentos experimentais:

- **Momento um (M₁)** → cultura de fezes para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada antes dos mesmos iniciarem o tratamento com levofloxacina.
- **Momento dois (M₂)** → cultura de fezes para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada no último dia do tratamento com levofloxacina.
- **Momento três (M₃)** → cultura de fezes para identificar e quantificar os microrganismos dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, realizada 30 dias após o final do tratamento com levofloxacina.



2.5 Diagnóstico das Pneumonias Adquiridas na Comunidade

Todos os indivíduos do Grupo de Pacientes (GP) foram avaliados clinicamente pelos médicos pneumologistas da cidade de Lins, SP.

O diagnóstico das pneumonias adquiridas na comunidade foi baseado em dados clínicos, epidemiológicos e por exames complementares inespecíficos (hemograma completo e RX de tórax).

2.6 Tratamento

O tratamento dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade foi estabelecido pelos médicos pneumologistas responsáveis. Foi utilizada a levofloxacina, 500 mg/dia, via oral, durante sete dias.

2.7 Características sócio-demográficas

Os indivíduos dos dois grupos foram orientados e entrevistados pela autora do trabalho, em local reservado, onde eram obtidas informações relativas ao sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool, medicamentos prescritos e condições socioeconômicas-culturais. Estes dados eram anotados em questionário previamente elaborado pela autora e os indivíduos informados de que não seriam identificados (apêndices 02 e 03).

2.8 Avaliação da Microbiota Intestinal

Para avaliação microbiológica da microbiota intestinal foi adaptado o método de Sutter e colaboradores⁽⁶⁰⁾.

Amostras de fezes dos indivíduos dos dois grupos foram coletadas em frascos estéreis contendo meio de Tioglicolato[®] (Probac do Brasil) que mantém viáveis tanto bactérias aeróbias como anaeróbias.

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 de Pacientes (GP) foram orientados, também no momento da aplicação do questionário que deveriam coletar três amostras de fezes, sendo que a primeira deveria ser antes do início do tratamento com levofloxacina prescrito pelo médico; a segunda seria coletada no último dia de tratamento e a

terceira, um mês após o término do tratamento. Todas as datas foram agendadas individualmente, à medida que o paciente era incluído 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 da adesão ao tratamento e as datas das coletas subsequentes. O espaço de tempo entre a coleta de cada amostra e sua manipulação no laboratório não ultrapassava o período de uma hora^(61, 62).

Cada amostra era homogeneizada, após desprezar adequadamente a solução conservante. Uma alíquota de um grama era pesada em balança analítica Bel, modelo Mark 2200.

Essa alíquota de um grama era colocada em tubo de ensaio com tampa rosqueável, contendo 9 mL de *Stuart Transport Medium*[®] (Laborclim). Este meio foi utilizado por conter Azul de Metileno que indica a presença de oxigênio, indesejável para os procedimentos. Essa mistura era homogeneizada em Agitador de tubos Phoenix (Mod. AP 56, série 7799), até completa diluição.

A partir desta diluição (10^{-1}), uma alíquota de 1000 μL era transferida para outro tubo de ensaio contendo o mesmo diluente (10^{-2}), agitada e, assim, consecutivas diluições foram realizadas até alcançar 10^{-8} , utilizando o mesmo diluente em todos os tubos e procedendo-se a agitação dos tubos.

Foram utilizados os meios de cultura *Kanamycin-vancomycin blood agar*, *Bifidobacterium medium* e *Lactobacillus seletive medium* (Probac do Brasil) para *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, respectivamente.

Após o preparo das diluições, alíquotas de 100 μL eram inoculadas nos meios de cultura seletivos, conforme o quadro 1. Para semear as amostras, individualmente, para cada diluição e meio de cultura, foi utilizada alça de Drigalski. As diluições e inoculações foram realizadas em Câmara de Fluxo Laminar Vertical, Veco, modelo – VLFS – 12, série FL - 7364.

Quadro 1. Inoculação de cada amostra, de acordo com os meios de cultura seletivos, diluições e microrganismos (**SUTTER**).

Meio de Cultura	Fezes (diluição)	Microrganismos
Agar sangue canamicina vancomicina	10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}	<i>Bacteroides</i>
Meio para <i>Bifidobacterium</i>	10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}	<i>Bifidobacterium</i>
Meio seletivo para <i>Lactobacillus</i>	10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}	<i>Lactobacillus</i>

Terminadas as inoculações, as placas devidamente identificadas eram acondicionadas em Jarras Anaeróbicas Gaspak, em ambiente anaeróbico e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por um período de 48 horas. Como gerador de atmosfera com reduzido teor de oxigênio e aumentado de gás carbônico, foi utilizado o Anaerobac[®] (Probac do Brasil).

Após o período de incubação, as placas foram analisadas quanto ao crescimento bacteriano e aspecto de colônias. As Unidades Formadoras de Colônias (UFC) eram contadas. As quantidades de UFC foram calculadas para cada diluição, em seguida, determinava-se a média para cada tipo de bactéria (apêndice 04).

Além disso, para cada teste realizaram-se as seguintes observações:

- morfologia das colônias – tamanho, forma, cor e aspecto
- análise morfotintorial – coloração de Gram
- prova de catalase – membros do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* dão reação negativa e bastonetes gram-negativos (*Bacteroides fragilis*) dão reação positiva.

2.9 Método Estatístico

Nas contagens de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, calculou-se média e desvio padrão com a transformação logarítmica dos dados e média na escala original, segundo Curi⁽⁶³⁾.

Para a comparação entre momentos (M_1 , M_2 e M_3) no grupo de pacientes (GP), foram utilizadas provas não paramétricas, testes de Friedman e de Dunn.

Para comparação entre os dois grupos independentes, GC e GP, foi utilizado teste não paramétrico, de Mann-Whitney.

Em todas as análises efetuadas, as estatísticas calculadas foram significativas quando $p < 0,05$.

2.10 Ética

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista, em reunião do dia 05/12/05 (anexo 1).

RESULTADOS

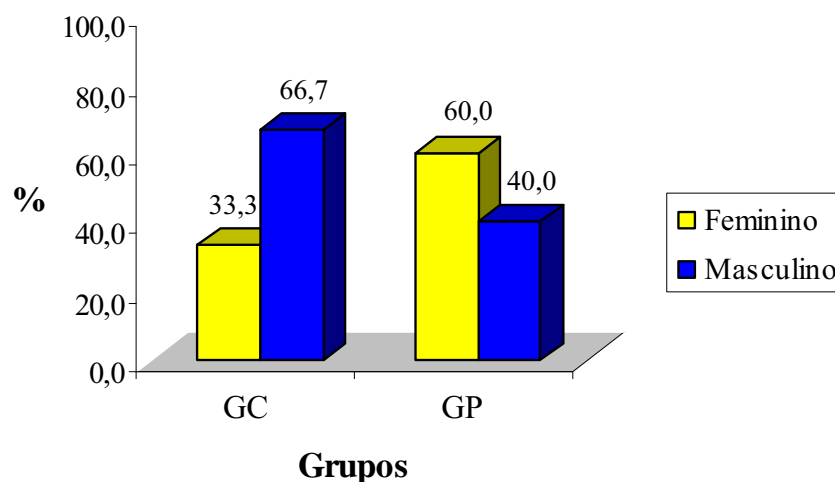
RESULTADOS

1. Características sócio-demográficas dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) e dos indivíduos do grupo controle (GC)

O estudo constou de 30 indivíduos, sendo 15 pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade e 15 doadores de sangue que constituíram o grupo controle (GC).

A figura 1 demonstra que o grupo controle (GC) foi composto por 10 indivíduos (66,7%) do sexo masculino e cinco (33,3%) do sexo feminino, enquanto que, no grupo de pacientes (GP), observou-se que a maior parte era composta por mulheres, isto é, nove mulheres (60%) e seis homens (40%). Não houve diferença entre os sexos dos indivíduos dos grupos controle e de pacientes ($p > 0,7048$).

Figura 1. Distribuição dos indivíduos de ambos os grupos do estudo, segundo o sexo.



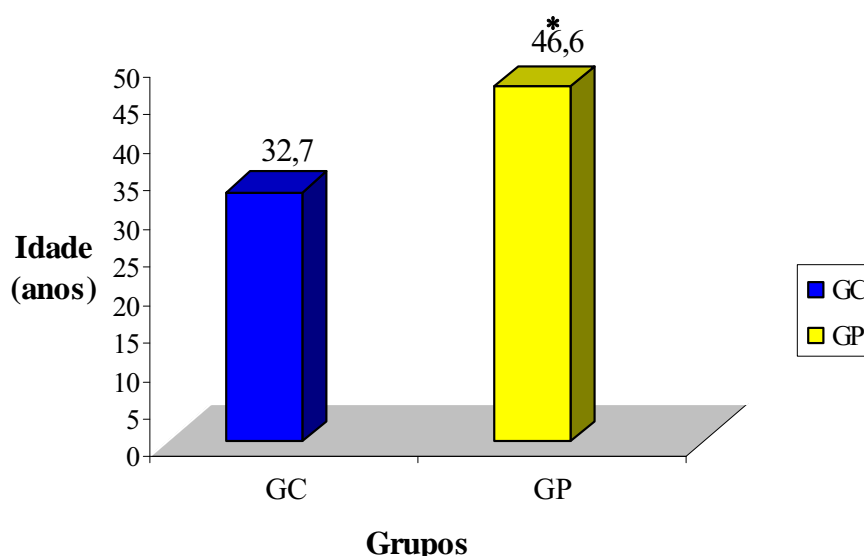
GC = grupo controle

GP = grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade

Análise estatística: $\chi^2 = 0,1435$ $p = 0,7048$ Feminino = Masculino

Quanto à média de idade dos grupos, verificou-se que a do GC foi mais baixa (32,7 anos) do que a do GP (46,6 anos), conforme observado na figura 2 e tabela 1. A idade do GC variou de 21 a 45 anos e no GP foi de 27 a 76 anos. A análise estatística demonstrou diferença entre as médias etárias do GC e GP ($p = 0,039$).

Figura 2. Média das idades dos indivíduos dos dois grupos.



GC = grupo controle

GP = grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade

* = significativo

Tabela 1. Média e desvio padrão das idades dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

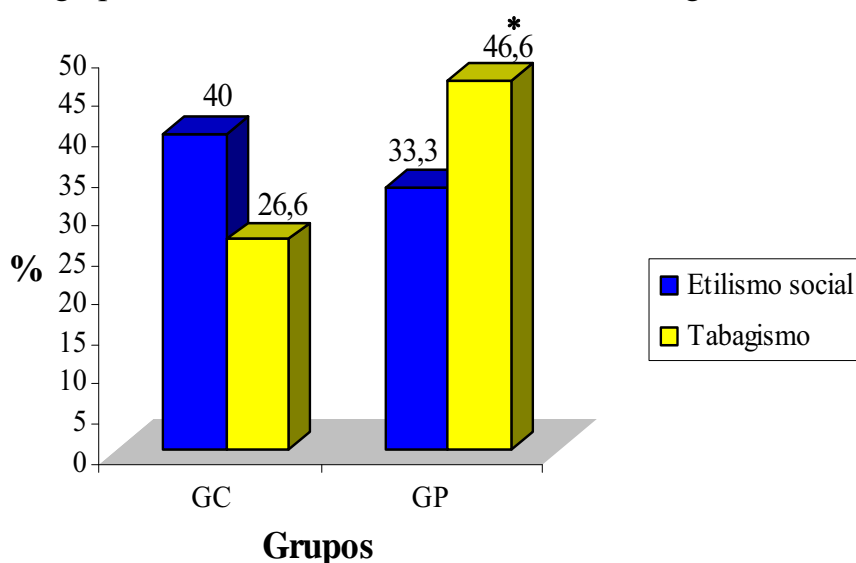
Grupos	Média	Desvio padrão
Controle	32,7	7,5
Pacientes com PAC	46,6	14,7

Análise estatística: $p = 0,039$ GC < GP (teste t Student)

Não havia entre os indivíduos nenhum etilista crônico e os que consumiam bebida alcoólica o faziam socialmente. Na figura 3, observa-se que, no grupo

controle, seis pessoas (40%) ingeriam bebida alcoólica socialmente e quatro (26,6%) tinham o hábito de fumar, enquanto que, no grupo de pacientes, cinco (33,3%) eram etilistas sociais e sete (46,6%) eram fumantes. Não houve diferença estatística entre os indivíduos dos grupos controle e de pacientes que ingeriam bebida alcoólica socialmente ($p=0,0051$), o mesmo não ocorrendo quanto ao hábito de fumar que foi maior entre os indivíduos do grupo de pacientes ($p=0,043$).

Figura 3: Distribuição dos indivíduos de ambos os grupos de acordo com o etilismo social e tabagismo



GC = grupo controle

GP = grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade

* = significativo

Análises estatísticas:

Etilismo social: $\chi^2 = 3,79$ $p = 0,051$ GC = GP

Tabagismo: $\chi^2 = 4,08$ $p = 0,043$ GC < GP (teste qui-quadrado)

O nível de escolaridade dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes (GP) é demonstrado na tabela 2. Foi observado que, no grupo controle, predominou indivíduos com curso superior incompleto e no grupo de pacientes, os com ensino médio incompleto.

Tabela 2. Nível de escolaridade dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Escolaridade	Grupos				Total (n=30)	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		n	%
	n	%	n	%		
Ensino fundamental incompleto	-	-	3	20,0	3	10,0
Ensino fundamental completo	2	13,3	3	20,0	5	16,6
Ensino médio incompleto	1	6,5	4	26,6	5	16,6
Ensino médio completo	3	20,0	2	13,3	5	16,6
Ensino superior incompleto	7	46,6	1	6,6	8	26,6
Ensino superior completo	2	13,3	2	13,3	4	13,3

No grupo controle, a média de pessoas na família era menor (3) do que no grupo de pacientes (4), mas a maioria das famílias, de ambos os grupos, possuía de três a quatro membros habitando a mesma residência, conforme demonstra a tabela 3.

Tabela 3. Número de pessoas na residência dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Número de pessoas na residência	Grupos				Total (n=30)	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		n	%
	n	%	n	%		
1 - 2	3	20,0	3	20,0	6	20
3 - 4	8	53,3	7	46,6	15	50
5 - 7	4	26,6	5	33,3	9	30

A tabela 4 mostra a renda familiar dos dois grupos estudados. A faixa salarial entre dois e quatro salários mínimos predominou em ambos os grupos: controle (GC) e de pacientes (GP), mas nas faixas salariais mais elevadas houve maior número de indivíduos do GC.

Tabela 4. Renda familiar dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Renda familiar (SM*)	Grupos				Total	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		(n=30)	
	n	%	n	%	n	%
0 1	-	-	-	-	-	-
1 2	2	13,3	5	33,3	7	23,3
2 4	7	46,6	6	40,0	13	43,3
4 6	2	13,3	1	6,6	3	10,0
6 8	1	6,6	1	6,6	2	6,6
8 10	2	13,3	2	13,3	4	13,3
10	1	6,6	-	-	1	3,3

SM* = Salário mínimo, valor de R\$350,00

Quanto à ocupação dos indivíduos verificou-se que, no grupo controle, predominaram os estudantes e aqueles com melhor qualificação profissional. Já, no grupo de pacientes, houve maior número de indivíduos com pior qualificação profissional (tabela 5).

Tabela 5. Ocupação dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Ocupação	Grupos				Total	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		(n=30)	
	n	%	n	%	n	%
Profissional liberal e/ou de nível superior	2	13,3	1	6,6	4	13,3
Trabalhador de nível médio	4	26,6	5	33,3	9	30
Operário qualificado	2	13,3	3	20,0	5	16,6
Trabalhador braçal, doméstico e/ou não qualificado	2	13,3	5	33,3	7	23,3
Estudante	5	33,3	1	6,6	6	20

A tabela 6 demonstra o tipo de assistência à saúde utilizada pelos indivíduos dos dois grupos. A maior parte dos indivíduos do grupo controle dispunha de plano de saúde e o contrário foi observado no grupo de pacientes.

Tabela 6. Tipo de assistência à saúde utilizada pelos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Assistência à saúde	Grupos				Total	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		(n=30)	
	n	%	n	%	n	%
Plano de saúde	9	60	5	33,3	14	46,6
SUS	6	40	10	66,6	16	53,3

Com relação à habitação, nos dois grupos, houve predomínio de indivíduos com casa própria, como observado na tabela 7. Todos os indivíduos de ambos os grupos moravam em área urbana, dispunham de água tratada, rede de esgoto e energia elétrica na residência.

Tabela 7. Condições de habitação dos indivíduos dos grupos controle (GC) e de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

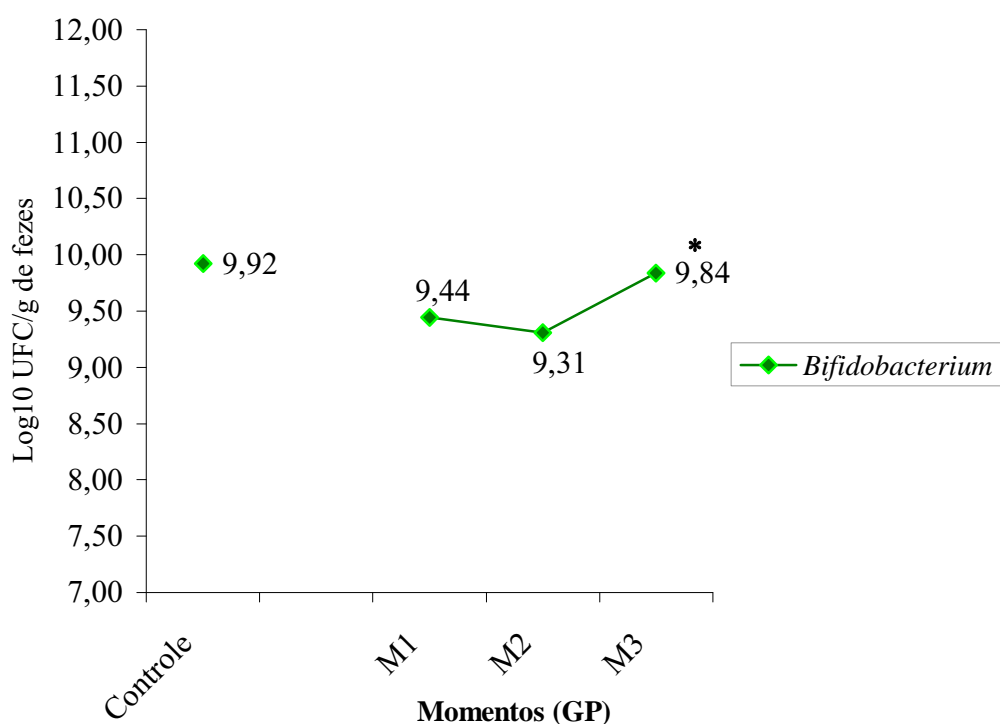
Habitação	Grupos				Total	
	Controle (n=15)		Pacientes (n=15)		(n=30)	
	n	%	n	%	n	%
Área urbana	15	100,0	15	100	30	100,0
Área rural	-	-	-	-	-	-
Casa própria	9	60,0	7	46,6	16	53,3
Casa alugada	6	40,0	6	40,0	12	40,0
Casa emprestada	-	-	2	13,3	2	6,6
Água tratada	15	100,0	15	100,0	30	100,0
Água de poço	-	-	-	-	-	-
Esgoto	15	100,0	15	100,0	30	100,0
Fossa	-	-	-	-	-	-
Energia elétrica	15	100,0	15	100,0	30	100,0

2. Composição da microbiota intestinal dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) e dos indivíduos do grupo controle (GC)

Avaliação de *Bifidobacterium* na microbiota intestinal

Após contagem das UFC/ g de fezes de *Bifidobacterium* do grupo controle (GC) e do grupo de pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), nos três momentos (M₁, M₂ e M₃), foi feita a média em Log 10. Os resultados são demonstrados na figura 4 e tabela 8. No M₁, o paciente já estava com diagnóstico de PAC, mas ainda não havia iniciado o tratamento com antimicrobiano. No M₂ a avaliação da microbiota era realizada no último dia de tratamento e no M₃, 30 dias depois do término do tratamento da PAC.

Figura 4. Média logarítmica da contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* no grupo controle (GC) e nos três momentos do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP)



UFC – Unidade Formadora de Colônia
M1- antes do início do tratamento com levofloxacina
M2 – último dia de tratamento com levofloxacina
M3 – 30 dias após o final do tratamento
Log10/g fezes – contagem logarítmica por grama de fezes
* = significativo

A caracterização da microbiota intestinal do grupo controle (GC) foi realizada apenas uma vez.

A comparação: entre as quantidades de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* no GP obtidas nos três momentos do estudo, entre os momentos segundo as quantidades de *Bifidobacterium* e entre os dois grupos do estudo está demonstrada nas tabelas 9, 10 e 11.

Tabela 8. Média e desvio padrão da contagem de *Bifidobacterium*, após transformação logarítmica, nos grupos controle e de pacientes, nos três momentos (M_1 , M_2 e M_3)

	Controle	Grupos		
		M_1	M_2	M_3
Média	9,92	9,44	9,31	9,84
Desvio padrão	0,95	0,73	0,88	0,70

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

Tabela 9. Comparação entre as quantidades de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) obtidos nos três momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3)

Hipótese	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 = M_2 = M_3$	$X^2 = 6,933$	$p = 0,0312$	$M_1 = M_2$; $M_1 = M_3$; $M_2 < M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Friedman)

Tabela 10. Comparação entre os momentos (M_1 , M_2 e M_3) segundo as quantidades de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* obtidas no grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Momentos	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 \times M_2$	$p > 0,05$	$M_1 = M_2$
$M_1 \times M_3$	$p > 0,05$	$M_1 = M_3$
$M_2 \times M_3$	$P < 0,05$	$M_2 < M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Dunn)

Tabela 11. Comparação da quantidade de *Bifidobacterium* nas fezes dos indivíduos do grupo controle (GC) e do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) nos 3 momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3).

Momentos	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 \times GC$	$U' = 74,00$	$p = 0,1151$	$M_1 = GC$
$M_2 \times GC$	$U' = 67,00$	$p = 0,0620$	$M_2 = GC$
$M_3 \times GC$	$U' = 103,00$	$p = 0,7089$	$M_3 = GC$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

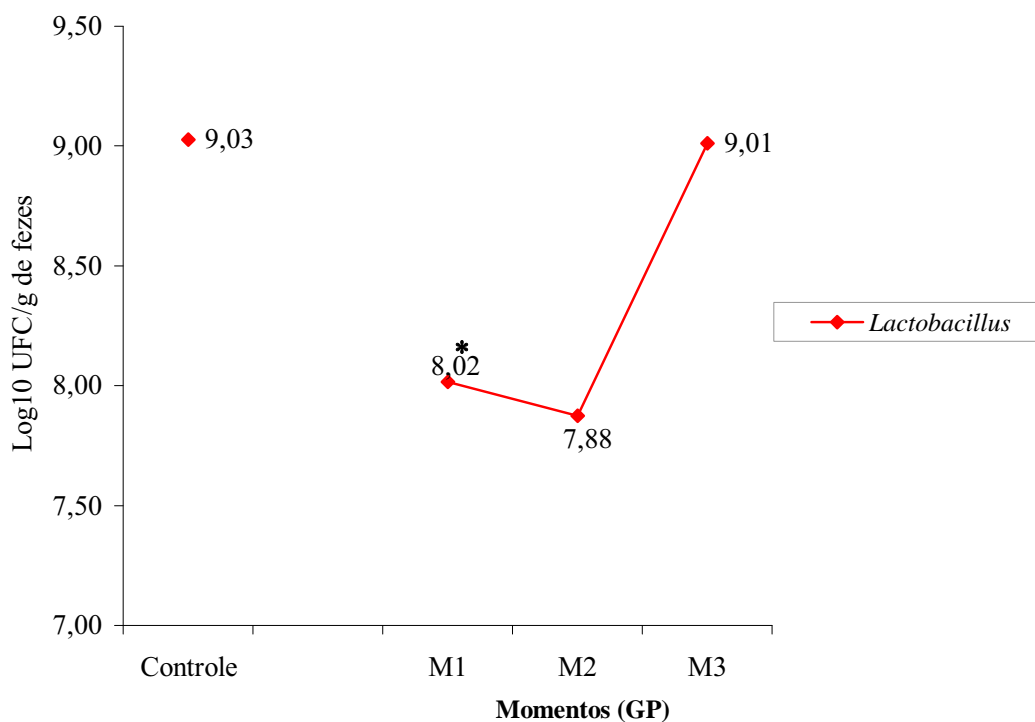
(teste de Mann Whitney)

A análise dos resultados demonstrou que houve diferença entre a quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* encontrada nos três momentos do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade ($p=0,0312$); que a quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* foi maior após um mês do término do tratamento ($p<0,05$) e que não houve diferença entre a quantidade de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium* entre os momentos (M_1 , M_2 e M_3) dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade e aquele encontrado no grupo controle.

Avaliação de *Lactobacillus* na microbiota intestinal

A quantidade de *Lactobacillus* das fezes dos indivíduos do grupo controle (GC) e do grupo de pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade (PAC) é apresentada na figura 5 e tabela 12, em escala logarítmica. A avaliação da microbiota intestinal dos indivíduos do GC foi realizada apenas uma vez e a do GP com PAC, em três momentos diferentes: antes do início do antimicrobiano (M₁), 10 dias após (M₂ - final do tratamento) e 30 dias depois de terminado o tratamento (M₃). A alteração da quantidade de *Lactobacillus* no GP foi significativa quando comparamos M₁ com M₃ ($p < 0,05$) e M₂ com M₃ ($p < 0,01$).

Figura 5. Média logarítmica da contagem de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* no grupo controle (GC) e nos três momentos do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP)



UFC – Unidade Formadora de Colônia
M1- antes do início do tratamento com levofloxacina
M2 – último dia de tratamento com levofloxacina
M3 – 30 dias após o final do tratamento
Log₁₀/g fezes – contagem logarítmica por grama de fezes

Tabela 12. Média e desvio padrão da contagem de *Lactobacillus*, após transformação logarítmica, nos grupos controle e de pacientes, nos três momentos (M_1 , M_2 e M_3)

	Controle	Grupos		
		M_1	M_2	M_3
Média	9,03	8,02	7,88	9,01
Desvio padrão	0,99	1,36	1,31	1,24

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

A análise dos resultados demonstrou que houve diferença entre a quantidade de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* encontrada nos três momentos do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade ($p = 0,01$); que a quantidade de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* foi menor no grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade ($p = 0,0362$) em M_1 e em M_2 ($p = 0,0162$) em relação ao grupo controle e, 30 dias após o final do tratamento (M_3) com levofloxacina não houve diferença entre a quantidade de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade e aquele encontrado no grupo controle (tabelas 13, 14 e 15).

Tabela 13. Comparação entre as quantidades de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) obtidos nos três momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3)

Hipótese	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 = M_2 = M_3$	$X^2 = 18,53$	$p < 0,01$	$M_1 = M_2 < M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Friedman)

Tabela 14. Comparação entre os momentos (M_1 , M_2 e M_3) segundo as quantidades de UFC/g de fezes de *Lactobacillus* obtidas no grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Momentos	Nível descritivo	Conclusão
M_1 x M_2	$p > 0,05$	$M_1 = M_2$
M_1 x M_3	$p < 0,05$	$M_1 < M_3$
M_2 x M_3	$P < 0,01$	$M_2 < M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina
 M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina
 M_3 – 30 dias após o final do tratamento (teste de Dunn)

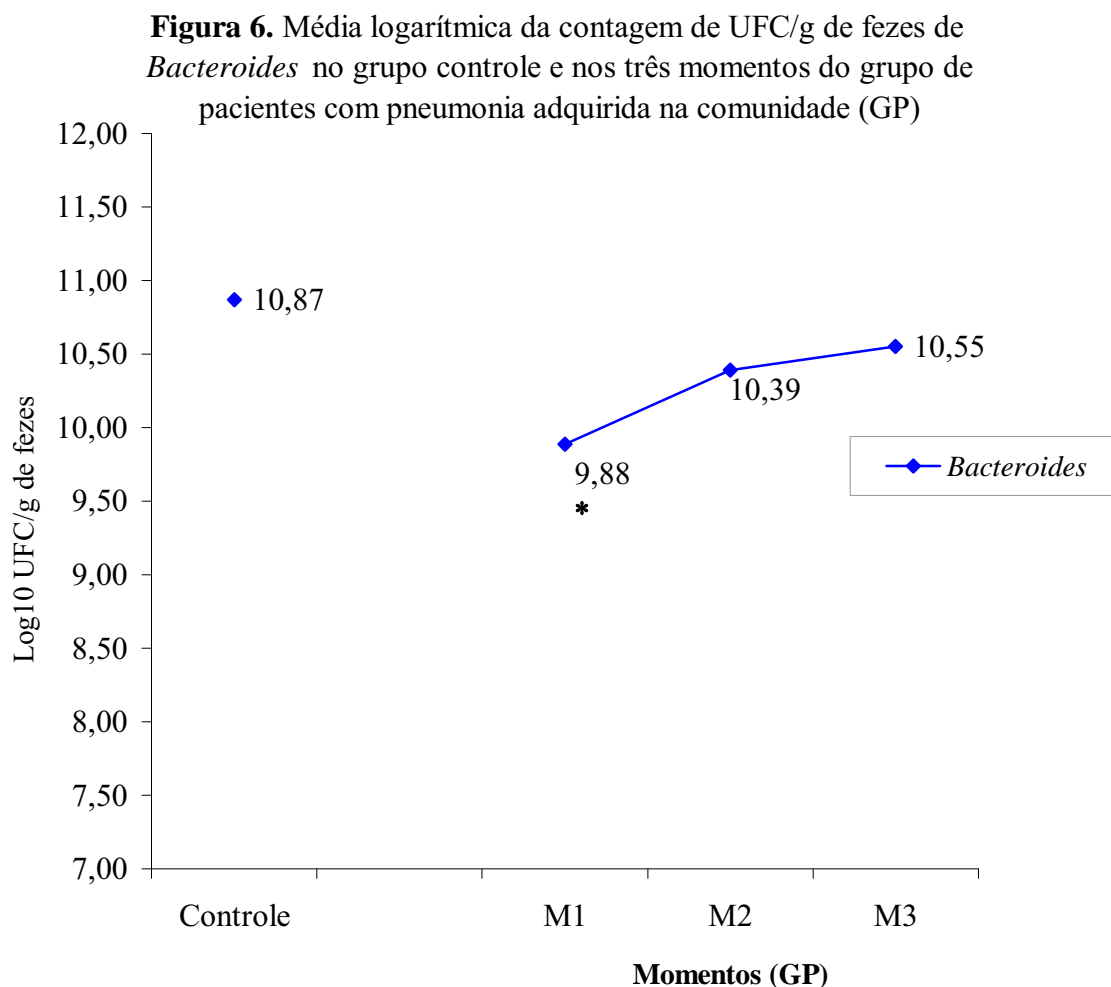
Tabela 15. Comparação da quantidade de *Lactobacillus* nas fezes dos indivíduos do grupo controle (GC) e do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) nos 3 momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3).

Momentos	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
M_1 x GC	$U' = 61,59$	$p = 0,0362$	$M_1 < GC$
M_2 x GC	$U' = 54,00$	$p = 0,0162$	$M_2 < GC$
M_3 x GC	$U' = 110,00$	$p = 0,9399$	$M_3 = GC$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina
 M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina
 M_3 – 30 dias após o final do tratamento (teste de Mann Whitney)

Avaliação de *Bacteroides* na microbiota intestinal

A figura 6 e a tabela 16 demonstram a média logarítmica da contagem das UFC/g de fezes de *Bacteroides* do grupo controle (GC = 10,87) e do grupo de pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), nos três momentos ($M_1 = 9,88$; $M_2 = 10,39$; $M_3 = 10,55$).



UFC – Unidade Formadora de Colônia

M1- antes do início do tratamento com levofloxacina

M2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M3 – 30 dias após o final do tratamento

Log₁₀/g fezes – contagem logarítmica por grama de fezes

Tabela 16. Média e desvio padrão da contagem de *Bacteroides*, após transformação logarítmica, nos grupos controle e de pacientes, nos três momentos (M_1 , M_2 e M_3)

	Controle	Grupos		
		M_1	M_2	M_3
Média	10,87	9,88	10,39	10,55
Desvio padrão	0,77	1,25	0,92	0,64

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

Não se observou diferença estatística na contagem de UFC/g de fezes de *Bacteroides* nos três momentos analisados no grupo de pacientes, conforme demonstram as tabelas 17 e 18.

Tabela 17. Comparação entre as quantidades de UFC/g de fezes de *Bacteroides* do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) obtidos nos três momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3)

Hipótese	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 = M_2 = M_3$	0,400	P=0,08187	$M_1 = M_2 = M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Friedman)

Tabela 18. Comparação entre os momentos (M_1 , M_2 e M_3) segundo as quantidades de UFC/g de fezes de *Bacteroides* obtidas no grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP).

Momentos	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 \times M_2$	$p > 0,05$	$M_1 = M_2$
$M_1 \times M_3$	$p > 0,05$	$M_1 = M_3$
$M_2 \times M_3$	$p > 0,05$	$M_2 = M_3$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Dunn)

Quando se compararam os três momentos experimentais (M_1 , M_2 e M_3) do grupo de pacientes com PAC (GP) com o grupo controle (GC), observou-se diminuição significativa na quantidade de UFC de *Bacteroides*/g de fezes em M_1 quando o paciente já estava diagnosticado, mas ainda não havia iniciado o tratamento com antimicrobiano. Este resultado é demonstrado na tabela 19.

Tabela 19. Comparação da quantidade de *Bacteroides* nas fezes dos indivíduos grupo controle (GC) e do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP) nos três momentos do estudo (M_1 , M_2 e M_3).

Momentos	Estatística	Nível descritivo	Conclusão
$M_1 \times GC$	$U' = 58,00$	0,0251	$M_1 < GC$
$M_2 \times GC$	$U' = 82,00$	0,2134	$M_2 = GC$
$M_3 \times GC$	$U' = 80,00$	0,1845	$M_3 = GC$

M_1 – antes do início do tratamento com levofloxacina

M_2 – último dia de tratamento com levofloxacina

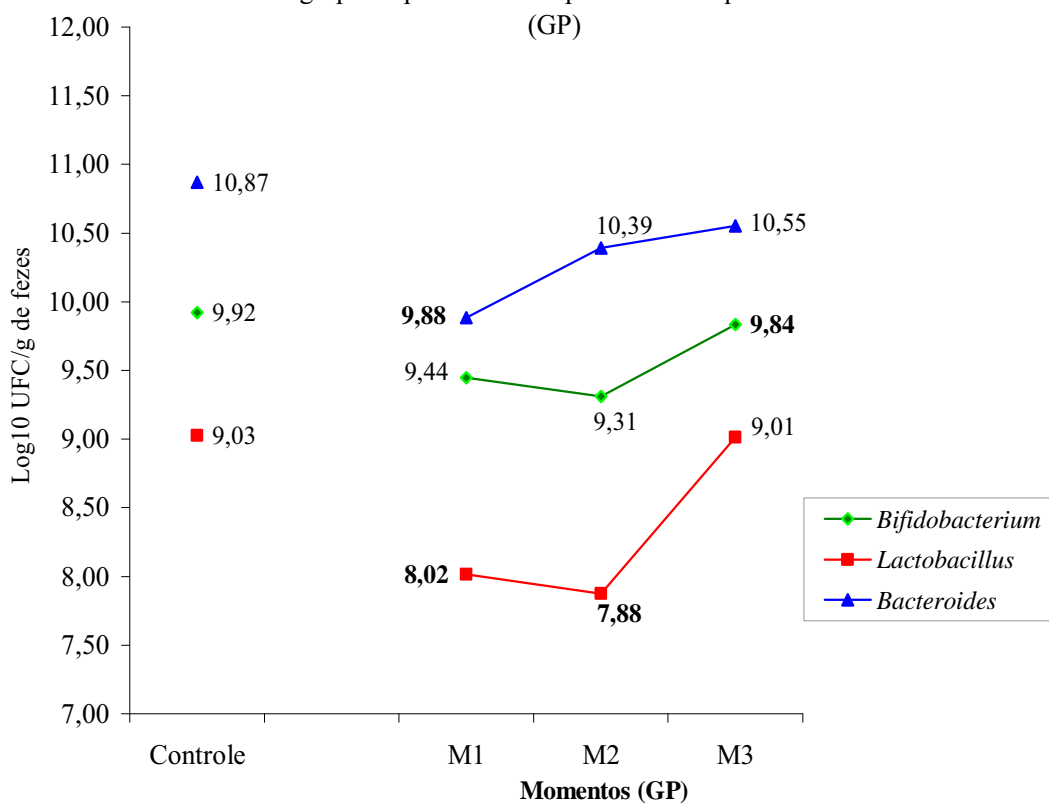
M_3 – 30 dias após o final do tratamento

(teste de Mann Whitney)

2.4 Avaliação final do comportamento de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* na microbiota intestinal de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade tratados com levofloxacina em relação ao grupo controle

A comparação da quantidade de UFC/g de fezes dos gêneros bacterianos pesquisados no grupo controle (GC) e nos três momentos experimentais (M₁, M₂ e M₃), no grupo de pacientes (GP) com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), está demonstrada na figura 7.

Figura 7. Média logarítmica da contagem de UFC/g de fezes de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* no grupo controle e nos três momentos do grupo de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade (GP)



UFC – Unidade Formadora de Colônia
M1- antes do início do tratamento com levofloxacina
M2 – último dia de tratamento com levofloxacina
M3 – 30 dias após o final do tratamento
Log10/g fezes – contagem logarítmica por grama de fezes

Pelo que expressa a figura 7, observa-se que nos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade, no momento do diagnóstico da doença, apenas *Lactobacillus* e *Bacteroides* estavam diminuídos em relação ao grupo controle. Ao final do tratamento, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* se achavam reduzidos e, na convalescença tardia, todos tinham a microbiota estudada comparável à do grupo controle.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O trato gastrointestinal humano abriga uma ampla, ativa e complexa comunidade de micróbios ⁽²²⁾. A microbiota intestinal desempenha várias funções importantes, tais como: digestão de alimentos, metabolismo dos compostos endógenos e exógenos, processos imunológicos e proteção contra a colonização por patógenos invasivos no trato gastrointestinal ^(11, 31, 40, 41).

Assim como no presente trabalho, a grande maioria dos estudos de microbiota intestinal tem sido realizada com fezes, porque é facilmente coletada e sua composição representa a microbiota do lúmen do cólon distal ^(3, 9, 64, 65, 66). O nível de microrganismos no intestino é fortemente dependente do local da amostra. A parte superior do intestino delgado apresenta poucos microrganismos devido à proximidade do estômago, mas a microbiota da porção inferior é semelhante a do cólon ⁽⁹⁾.

Observou-se no presente estudo que a maior parte dos indivíduos do grupo de pacientes (GP) era do sexo feminino e com idade de 27 a 64 anos. Estas foram questionadas sobre a utilização de hormônios ou qualquer tipo de desordem hormonal e todas as respostas foram negativas. O fator hormonal era levado em consideração para que a paciente fosse incluída no estudo. Nesse sentido, Monreal , em 2003 e Souza, em 2007, relatam que desordens relacionadas aos hormônios esteróis podem influenciar a microbiota gastrointestinal e que amostras de fezes de mulheres após a menopausa apresentam maior quantidade de fungos, *Clostridium* e *Lactobacillus* ^(67, 68). No atual trabalho não foi observado alteração nos *Lactobacillus* nas fezes do grupo de pacientes, quando comparados com o grupo controle.

Estudos demonstram que ocorrem trocas na composição da microbiota intestinal de indivíduos idosos, mas a média total da contagem de anaeróbios do material fecal permanece relativamente estável em populações idosas ^(3, 31, 32, 69). Para Woodmansey, em 2007, com o aumento da idade há declínio no número e diversidade de espécies de muitos anaeróbios benéficos e protetores, como *Bacteroides* e *Bifidobacterium*, assim como, mudanças nas espécies de bactérias dominantes podem ajudar a entender a diminuição da funcionalidade da microbiota em algumas pessoas idosas ⁽³²⁾. Segundo o Estatuto do Idoso (2003), pessoa com idade igual ou superior a 60 anos é considerada idosa ⁽⁷⁰⁾. No presente estudo havia

apenas dois pacientes idosos, mas não foi observada diferença na contagem de microrganismos, em relação aos demais indivíduos do grupo.

Não existia entre os indivíduos dos grupos de pacientes (GP) e controle (GC), do atual estudo, nenhum etilista crônico, mas metade do GP eram tabagistas. Alguns estudos demonstraram que o tabagismo altera a microbiota da cavidade bucal, o que é um fator de risco para as doenças periodontais ^(71, 72, 73). Kantorski e colaboradores, em 2007, realizaram estudo com ratos que verificava o efeito de uma dieta alcoólica sobre a cárie dentária e bactérias envolvidas na etiologia dessa doença e, concluíram que a dieta com ingestão de álcool aumentou a incidência de lesões cariosa ⁽⁷⁴⁾. Não foram encontrados estudos relacionados com a influência do tabagismo e etilismo sobre a microbiota intestinal.

Vários estudos afirmam que a dieta é um determinante importante da função intestinal ^(18, 29, 31, 65, 75). Segundo Flint e colaboradores, em 2007, a fonte de energia que mantém a comunidade microbiana do intestino grosso são os componentes da dieta que resistem à degradação no trato intestinal alto junto com produtos endógenos, tais como a mucina ⁽⁷⁵⁾. Os autores também afirmam que a relativa abundância de diferentes cepas bacterianas, particularmente dentro do lúmen intestinal, provavelmente está em um contínuo estado de troca em resposta à ingestão de alimento e a fisiologia do hospedeiro ⁽⁷⁵⁾.

O principal produto do metabolismo da microbiota colônica do intestino são os ácidos graxos de cadeia curta que incluem os ácidos acético, propiônico e butírico. Os ácidos acético e butírico são rapidamente absorvidos e representam a maior fonte de energia para o hospedeiro ⁽⁹⁾. Bäckhed e colaboradores, em 2004, realizaram experimentos com ratos e verificaram que aqueles que possuíam microbiota intestinal adquirida ao nascer tinham 60% mais gordura corporal do que os animais estéreis ⁽⁷⁶⁾. Embora estes testes não tenham sido realizados com humanos, eles sugerem que a microbiota intestinal é um importante fator ambiental na retirada de energia da dieta e no seu armazenamento no hospedeiro ⁽⁷⁶⁾.

A alimentação do indivíduo está relacionada com sua condição socioeconômica, estilo de vida e hábitos culturais ^(11, 67). Quando os indivíduos pertencem a uma mesma área geográfica onde os hábitos culturais e estilos de vida são semelhantes, a condição socioeconômica se torna o fator mais decisivo na determinação do tipo de dieta dos mesmos ⁽⁶⁷⁾. No presente trabalho, foi verificado que em ambos os grupos

estudados a renda familiar predominante era baixa em quase metade dos indivíduos e que dois indivíduos, de cada um dos grupos, tinham renda superior. Também se verificou que todos os indivíduos que participaram do estudo, moravam em área urbana, dispunham de rede saneamento básico e luz elétrica. A maioria dos indivíduos do grupo controle e quase metade do grupo de pacientes moravam em casa própria. Monreal, em 2003, realizou trabalho no município de Botucatu – SP e verificou que a maioria dos participantes do estudo, dos grupos controle (GC) e de pacientes (GP) possuíam casa própria, sendo que a maior porcentagem de proprietários pertencia ao GP ⁽⁶⁷⁾.

Há fortes evidências que alterações na microbiota intestinal modificam sua função e são fatores que contribuem em muitas doenças crônicas e degenerativas ⁽⁹⁾. Doenças - gastrointestinal e extraintestinal - podem influenciar a microbiota intestinal e vice-versa ⁽²³⁾.

Os parâmetros avaliados neste estudo - faixa etária, consumo de álcool, tabagismo e condições socioeconômicas, demonstraram que as amostras eram homogêneas em relação aos dados sócio-demográficos, permitindo a comparação dos resultados obtidos na pesquisa da microbiota intestinal dos indivíduos com pneumonia adquirida na comunidade (GP) e os doadores de sangue (GC).

Doenças como a diarreia que é a mais documentada e a enterite pseudomembranosa são reconhecidas como decorrentes do desequilíbrio da microbiota intestinal, mas a alergia, doença inflamatória intestinal, obesidade, câncer de cólon e artrite reumatóide têm sido associadas com mudanças nos microrganismos intestinais ^(9, 10, 23).

Vários estudos sugerem que a composição da microbiota intestinal pode ser diferente em indivíduos com atopia ^(9, 64, 77, 78). Björkstén e colaboradores, em 1999, analisaram fezes de crianças alérgicas da Estônia e Suécia, com dois anos de idade e, verificaram menor quantidade de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides*, mas a contagem de microrganismos aeróbios foi maior, particularmente coliformes e *Staphylococcus aureus* ⁽⁷⁹⁾. Songjinda e colaboradores, em 2007, monitoraram a composição bacteriana das fezes de 15 crianças japonesas, nos primeiros dois meses, incluindo oito crianças que desenvolveram alergia aos dois anos de idade ⁽⁸⁰⁾. Esses autores atestaram que a população de *Bacteroidaceae* foi maior no grupo de alérgicos com idade de 1 e 2 meses, do que no grupo de não alérgicos ⁽⁸⁰⁾. Os

indivíduos que participaram do presente estudo não fizeram nenhuma referência à atopia ou doenças inflamatórias que poderiam interferir com a microbiota intestinal.

A doença inflamatória intestinal, usualmente denominada como doença de Crohn's e, a colite ulcerativa são doenças crônicas com muita similaridade nos mecanismos patogênicos, no curso clínico e sem terapia etiológica definida ⁽⁹⁾. Pacientes com doença inflamatória intestinal têm maior quantidade de bactérias ligadas à superfície da mucosa do que as pessoas saudáveis ^(9, 81). Swidsinski e colaboradores, em 2002, relatam que essas bactérias são de diversos gêneros e algumas delas, especialmente *Bacteroides*, foram identificadas dentro da camada epitelial e em algumas situações, intracelularmente ⁽⁸²⁾. Assim, a ativação do sistema imune intestinal por microrganismos da microbiota seria uma chave na patofisiologia da doença inflamatória intestinal ⁽⁸²⁾. Na doença inflamatória intestinal em humanos há uma interação direta da microbiota intestinal com a atividade inflamatória da mucosa intestinal estimulada, sobre as lesões intestinais ⁽⁸¹⁾.

Vários estudos têm sido realizados para verificação do impacto de algumas doenças sobre a composição da microbiota intestinal e a utilização de antimicrobianos, por via oral, para o tratamento das infecções ^(1, 9, 11, 31, 32, 39, 40, 83, 84, 85, 86).

A importância da pneumonia é considerável; ela permanece como causa de mortalidade e morbidade, mesmo em países desenvolvidos ⁽⁸⁷⁾. O diagnóstico da pneumonia adquirida na comunidade (PAC), frequentemente, é realizada com base nos sinais e sintomas, assim como, nos testes laboratoriais e radiológicos ⁽⁴⁵⁾. A escolha da terapêutica antimicrobiana é essencialmente empírica, baseando-se em dados clínicos e epidemiológicos, uma vez que a propedêutica etiológica é demorada e de baixo rendimento, não se justificando o inerente retardo na instituição da terapêutica ⁽⁸⁸⁾.

As fluoroquinolonas, como por exemplo, a levofloxacina, tem apresentado alta efetividade no tratamento da PAC. O uso da levofloxacina em regime de pouco tempo tem se mostrado eficaz, útil e tolerável em paciente com PAC ⁽⁵¹⁾. O curto tempo de tratamento diminui o uso do antimicrobiano, reduzindo a exposição da microbiota comensal à droga e como vantagem adicional, aumentaria a adesão do paciente à terapia ⁽⁵⁵⁾.

No entanto, cabe salientar que se observou nos doentes com pneumonia adquirida na comunidade diminuição das UFC/g de fezes de *Lactobacillus* e *Bacteroides*, embora a quantidade de *Bifidobacterium* não tenha sido alterada. Estes achados estão em concordância com os de outros trabalhos que relatam alteração na microbiota intestinal de indivíduos com diferentes patologias^(9, 29, 65, 77, 78, 79, 83, 89).

Shamsiev, em 2001, estudou a microbiota de crianças com pneumonia e verificou que quase a totalidade dos exames realizados, apresentou distúrbios na microecologia intestinal⁽⁸³⁾.

Em outro estudo, Monreal e colaboradores, em 2005, realizaram pesquisa em pacientes com infecções de trato respiratório, tratados com amoxicilina⁽²⁹⁾. Os exames microbiológicos eram realizados antes do início do tratamento, no final do uso da amoxicilina e 30 dias após o término. Os autores verificaram que a infecção do trato respiratório alterou a microbiota intestinal⁽²⁹⁾. Esses resultados são semelhantes com os do atual trabalho, com pacientes sofrendo de PAC cuja microbiota intestinal foi alterada pela doença.

Antibióticos podem causar grandes distúrbios na microbiota intestinal e importantes bactérias anaeróbias do intestino, como as *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* podem ser radicalmente reduzidas ou até mesmo erradicadas durante o tratamento com essas drogas, enquanto que bactérias patogênicas podem proliferar⁽⁴⁰⁾. A influência do uso de antimicrobiano no padrão da microbiota intestinal é transitória, mas pode persistir por algum período após o término do uso⁽¹⁰⁾.

No atual estudo, foram avaliados três momentos da microbiota intestinal de indivíduos com pneumonia adquirida na comunidade (PAC), tratados com levofloxacina. Observou-se que o antimicrobiano alterou a população de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, mas não interferiu com *Bacteroides*. Na análise microbiológica realizada, 30 dias após o término do tratamento, a microbiota intestinal dos indivíduos estava recuperada. Esses resultados estão em concordância com outros trabalhos realizados, embora nem todos eles tenham utilizados a mesma droga e pesquisado as mesmas bactérias^(29, 41, 84, 85, 86).

A literatura não relata estudos que avaliem a alteração da microbiota intestinal de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade, tratados com levofloxacina.

Aqueles que foram desenvolvidos referem-se à alteração da microbiota fecal de indivíduos saudáveis, sem considerar a presença de processo infeccioso.

Inagaki e colaboradores, em 1992, estudaram a microbiota fecal de seis adultos saudáveis que ingeriram 600 mg/dia de levofloxacina, por sete dias consecutivos e verificaram que a contagem dos membros da família *Bacteroidaceae* permaneceu inalterada, mas muitos aeróbios e anaeróbios facultativos foram suprimidos⁽⁸⁶⁾. Após três dias, *Enterobacteriaceae* foi reduzida abaixo do limite detectável. *Peptostreptococcus* e *Bifidobacterium* diminuíram ou desapareceram em alguns voluntários, porém cepas de *Bacteroides* foram detectadas durante o estudo⁽⁸⁶⁾.

Edlund e colaboradores, em 1997, observaram que 500 mg/dia de levofloxacina administrada por via oral, durante sete dias, a 10 indivíduos saudáveis, levou a uma significativa diminuição de enterococos e enterobactérias⁽⁹⁰⁾. Entre as bactérias anaeróbias que sofreram diminuição mínima estavam *Clostridium* e *Bifidobacterium*⁽⁹⁰⁾.

Lode e colaboradores, em 2001, compararam à ação de 600 mg/dia de linezolida e de 1g/dia de amoxicilina com clavulanato na microbiota intestinal, de 12 indivíduos saudáveis⁽⁸⁴⁾. Os exames microbiológicos das fezes foram realizados antes, durante e após a administração dos medicamentos que foi de sete dias. A linezolida diminuiu a microbiota anaeróbica, de modo significativo sobre *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Clostridium*. A amoxicilina com ácido clavulânico causou redução significativa em *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium*. Entretanto, em ambos os grupos, a microbiota intestinal voltou ao normal no 35º dia⁽⁸⁴⁾. Situação semelhante foi verificada no presente trabalho, no qual os indivíduos tratados com levofloxacina apresentaram recuperação da microbiota intestinal no 30º dia após o término do tratamento.

La Cochetière e colaboradores, em 2005, examinaram amostras de fezes de seis indivíduos saudáveis que receberam 1,5 g/dia de amoxicilina, por cinco dias⁽⁴¹⁾. Os exames foram realizados antes do início da droga, durante (1º, 2º, 3º e 4º dias) a ingestão da amoxicilina e após (30 e 60 dias) o término do antimicrobiano. Os autores verificaram que as mudanças ocorreram 24 horas após a ingestão, mas com 30 dias 88% dos indivíduos alcançaram resultados similares ao anterior à utilização da amoxicilina e com 60 dias, 89% voltaram ao normal. O trabalho também sugere que a persistência de alterações por longo tempo, em alguns indivíduos, pode

explicar a susceptibilidade ao antibiótico, associada com a diarreia ⁽⁴¹⁾. No presente estudo pode-se observar que a levofloxacina alterou os níveis de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* na microbiota intestinal dos indivíduos, sendo que no 30º dia após o fim do tratamento, a recuperação foi total.

No estudo realizado por Monreal e colaboradores, em 2005, com 22 pacientes com infecção do trato respiratório, medicados com amoxicilina, por sete dias, foi constatado que o antimicrobiano diminuiu o número de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, embora nenhuma alteração tenha sido observada com *Bacteroides*, mas 30 dias após o término do tratamento os autores verificaram que a microbiota foi restabelecida ⁽²⁹⁾. Os resultados obtidos no presente estudo, estão em concordância com os encontrados por Monreal e colaboradores.

Em outro estudo, Souza e colaboradores, em 2007, estudaram a microbiota intestinal de 10 indivíduos que sofreram acidente ocupacional com materiais biológicos e receberam anti-retrovirais ⁽⁴²⁾. A coleta das fezes foi realizada em três momentos: até dois dias do início da profilaxia, no último dia e 30 dias após o término. As análises microbiológicas demonstraram que houve redução significativa de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides*, sem recuperação em 30 dias ⁽⁴²⁾. Esses dados diferem do observado no atual trabalho, na qual a microbiota dos 15 indivíduos com pneumonia adquirida na comunidade que foram tratados com levofloxacina foi restabelecida, 30 dias após o término do tratamento.

No presente estudo observou-se que os indivíduos com pneumonia adquirida na comunidade apresentaram diminuição significativa de *Lactobacillus* e *Bacteroides* nas fezes e que o tratamento com levofloxacina alterou a população de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Também foi observado que 30 dias após o término da ingestão do antimicrobiano a microbiota intestinal foi restabelecida.

Portanto, pode-se observar que tanto a doença, quanto a utilização de antimicrobianos, alterou a microbiota intestinal, a qual tem importante participação na fisiologia e defesa do organismo. Nesse sentido, podemos inferir que esses indivíduos têm mais propensão a sofrerem os efeitos prejudiciais acarretados pelo desequilíbrio do ecossistema intestinal, tais como gastroenterites e infecções causadas por *Clostridium difficile*.

Quando a composição da microbiota intestinal é avaliada, podem-se detectar as alterações capazes de causarem prejuízos ao hospedeiro. Essas alterações podem ser

minimizadas com medidas terapêuticas e alimentares recomendadas ao paciente, pela equipe de saúde.

Tendo em vista, a importância da microbiota intestinal na manutenção da saúde do hospedeiro, faz-se necessário a realização de outros estudos com indivíduos com a mesma patologia para que se pesquisem métodos alternativos para minimizar os efeitos que a alteração deste importante ecossistema pode acarretar.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a incidência da pneumonia adquirida na comunidade e a importância da microbiota intestinal para o organismo, este estudo permitiu detectar algumas alterações que ocorrem no ecossistema intestinal de indivíduos com essa infecção e tratados com levofloxacina.

O estudo das características sócio-demográficas dos indivíduos que participaram deste trabalho demonstrou que os dois grupos apresentaram homogeneidade, sendo que as principais diferenças entre eles foram relacionadas à idade e escolaridade e esses fatores não devem ter influenciado a microbiota intestinal.

Este estudo demonstrou que a pneumonia adquirida na comunidade alterou a microbiota intestinal dos pacientes, diminuindo a quantidade de *Lactobacillus* e *Bacteroides* que desempenham várias funções importantes no intestino que têm repercussões no organismo como um todo.

O tratamento da infecção realizado com a administração oral de levofloxacina levou à diminuição das UFC/g de fezes das bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* que se normalizaram após 30 dias do término do tratamento com o antimicrobiano e a quantidade destes microrganismos retornou aos valores normais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas *

1. Servin LA. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Reviews* 2004; 28:405-40.
2. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev Microbiol*; 1977; 31:107-33.
3. Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. Probiotic. *Best Pract Resear Clin Gastroent* 2004; 18:299-313.
4. Mccracken VJ, Lorenz RG. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cell Microbiol* 2001; 3:1-11.
5. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (Suppl):1035-1045.
6. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends microbiol* 1996; 4:430-5.
7. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *The Lancet* 2003; 361:512-19.
8. Vaughan EE, Heilig HGJ, Ben-Amor K, DeVos WM. Diversity vitality and activities of intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria assessed by molecular approaches. *FEM Microbiol Reviews*, 2005; 29:477-90.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *J Pediat* 1997; 73:213-24. National Library of Medicine. List of Journals Indexed in Index.

-
9. Thompson-Chagoyán OC, Maldonado J, Gil A. Colonization and impact of disease and other factors on intestinal microbiota. *Dig Dis Scien* 2007; 52 (9):2069-77.
 10. Brandt KG, Sampaio MMSC, Miuki CJ. Importância da microbiota intestinal. *Pediatr* 2006; 28(2):117-27.
 11. Levy J. The effects of antibiotic use on gastrointestinal function. *Am J Gastrent* 2000; 95 (Suppl 1):58-60.
 12. Zoetendal EG, Akkermans AD, Akkermans – van Vliet WM, de Vesser J, de Vos WM. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microb Ecol Health Dis* 2001; 13:129-34
 13. Hooper LV, Midtevedt T, Gordon JI. How host – microbial interactios shape the nutrient enviromment of the mammalian intestine. *Ann Review Nutrit* 2002; 22:283-307.
 14. Larsen B, Monif GRG. Understanding the bacterial flora of the female genital tract. *Clin Infect Diseases* 2001; 32:e 69-e 77.
 15. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after Cesarean delivery. *J of Pediat Gastroent and Nutr* 1999; 28:19-25.
 16. Walker WA, Duffy LC. Diet and bacterial colonization: role of probiotics. *J Nutr Biochem* 1998; 9:668-75.
 17. Morais MB, Jacob CMA. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. *J Ped* 2006; 82(Supl 5): S189-S197.
 18. Hopkins M.J, Sharp R, Macfarlane GT. Variation in human intestinal microbiota with age. *Digest Liv Diseas* 2002; 34(Suppl 2):S12-S18.

-
19. Chen CC, Walker WA. Probiotics and Prebiotics: role in clinical disease states. *Adv Ped* 2005; 52:77-113.
20. Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *B J Nutr* 2002; 88:S39-S49.
21. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first probiotic in humans: human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroent* 2004; 38:S80-S83.
22. Tannock GW. Analysis of the intestinal microflora using molecular methods. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (Suppl 4):S44-S49.
23. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. Probiotics – a role in the treatment of intestinal infection and inflammation. *Gut* 2002; 50 (Suppl III) 54—9.
24. Lupp C, Finlay BB. Intestinal microbiota. *Current biol* 2005; 15:235-6
25. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80 (Suppl 1):S147-71.
26. Grönlund MM, Arvilommi H, Kero P, Lehtonen OP, Isolauri E. Importance of intestinal colonisation in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 months. *Arch Dis Child* 2000; 83:186-92.
27. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am j Clin Nutr* 1999; 69:1046-51.
28. Búrigo T, Fagundes RLM, Trindade EBSM, Vasconcelos HCFF. Efeito bifidogênico do frutooligosacarídeo na microbiota intestinal de pacientes com neoplasia hematológica. *Rev Nutr* 2007; 20(5)491-97.

-
29. Monreal MTFD, Pereira PCM, Lopes CAM. Intestinal microbiota of patients with bacterial infection of the respiratory treated with amoxillin. *Braz J Infect Diseas* 2005; 9(3):292-300.
30. Simmering R, Blaut M. Pro - and prebiotics- the guardian angels? *Appl Microbiol* 2001; 55:19-28.
31. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, McMurdo MET. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Envirom Microb* 2004; 70(6): 292 -300.
32. Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microb* 2007; 102:11178-86.
33. Minshew BH, Jorgensen J. Swanstrum M. Some characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal infections oh humans. *J Infect Dis* 1978; 137:648-54.
34. Chitkara YK, King SD, French GL. Typing of *Pseudomonas aeruginosa* by production of pyocines. *West Indian Med J* 1977; 26:12-8.
35. Koruda UM, Rolandelli RH, Settle RG. The effect of a pectin supplemental elemental diet on intestinal adaptation to massive small bowel resection. *J Parenter Enter Nutr* 1986; 10:343-50.
36. Donskey CJ, Hujer AM, Das SM, Pultz NJ, Bonomo RA, Rice LB. Use of denaturing gradient gel eletrophoresis for analyses of the stool microbiota of hospitalized patients. *J Microb Meth* 2003; 54:249-56.
37. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel eletrophoresis analysis of 16 S rRNA from human fecal samples reveals stable and

host – specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64:3854-59

38. Finegold SM. Interaction of antimicrobial therapy and intestinal flora. *Am J Clin Nutr* 1970; 23:1466-77.

39. Plumer SF, Garaiova I, Sarvotham T, Cottrel SL, Scouiller SL, Scouiller SL, Weaver MA, Tang J, Dee P, Hunter J. Effects of probiotics on the composition of the intestinal microbiota following antibiotic therapy. *Intern J Antim Agents* 2005; 26:69-74

40. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lanc Infect Dis* 2001; 1:101-14

41. De La Cochetière MF, Durand T, Lepage P, Bourreille A, Gamiche JP, Doré J. Resilience of the dominant human fecal microbiota upon short-course antibiotic challenge. *J Clin Microb* 2005; 43(11):5588 – 92.

42. Souza ME, Pereira PCM. Microbiota intestinal de indivíduos que sofreram acidente ocupacional com materiais biológicos e que realizaram profilaxia anti-retroviral. *Rev Med Trop* 2007; 40(6):653-56.

43. World Health Organization. Health systems: improving performance. Geneva, WHO, 2000.

44. World Health Organization. Report of the first international review meeting practical approach to lung health strategy: 4 – 6 september 2002 Rabat, Morocco. Geneva, WHO, 2003.

45. Mandell LA, Marrie TJ, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH, for the Canadian Community-acquired pneumonia working group. Canadian guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the

Infectious Disease Society and Canadian Thoracic Society. *Clin Infect Dis*, 2000; 31:383-421.

46. Niederman MS, Mandell LA, Anzueto A, Bass JB, Broughton WA, Campbell GD, Dean N, Fine MJ, Goss PA, Martinez F, Marrie TJ, Plouffe JF, Ramirez J, Sarosi GA, Torres A, Wilson R, Yu VL, for the Ad-hoc subcommittee of Assembly on Microbiology. Tuberculosis and pulmonary infections. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy and prevention. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 163:1730-54.

47. Falguera M, Sacristan O, Nogues A, Ruiz-Gonzales A, Garcia M, Manonelles A, Rubio-Cavallero M. Nonsevere community-acquired pneumonia: correlation between cause and severity or comorbidity. *Arch Intern Med*, 2001. 161:1866-72.

48. Bochud PY, Moser F, Erard P, Verdon F, Studer JP, Villard G, Cosendai A, Cotting M, Heim F, Tissot J, Strub Y, Pazeller M, Saghafi L, Wender A, German D, Matter L, Bille J, Pfister L, Francioli P. Community-acquired pneumonia. A Prospective outpatient study. *Medicine (Baltimore)*, 2001; 80:75-87.

49. Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File TMJ, Musher DM, Fine MJ, for the Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis*, 2000; 31:347-82.

50. Klugman KP, Low DE, Metlay J, Pechere C, Weiss K. Community-acquired pneumonia: new management strategies for evolving pathogens and antimicrobial susceptibilities. *Intern J Antim Agents*, 2004; 24:411-22.

51. Segreti J, House Hr, Siegel RE. Principles of antibiotic treatment of community-acquired pneumonia in the outpatient setting. *Am J Med*, 2005; 118 (Suppl 7A): 21S-28S.

-
52. Bonomo RA. The new fluoroquinolone antibiotics. *Clin Microb Newsl*, 1998; 20:197-208.
53. Winer SM, Schoonover L, Garrison MW. Levofloxacin: a therapeutic review. *Clin Therap*, 1998; 20:1049-70.
54. Ball P. Efficacy and safety of levofloxacin in the context of other contemporary fluoroquinolones: a review. *Cur Therap Resear*, 2003; 64:645-61.
55. Liu HH. Use of the respiratory fluoroquinolones for the outpatient management of community-acquired pneumonia. *Cur Therap Resear*, 2004; 65:225-38.
56. Andriole VT. The quinolones: past, present and future. *Clin Infect diseas*, 2005; 42 (Suppl 2):113-19.
57. Fish DN. Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Farmacother* 2001; 21(Suppl):S253-S272.
58. Sprandel KA, Rodvold KA. Safety and tolerability of fluoroquinolones. *Clin Cornerstone* 2003; 3(Suppl):S29-S36.
59. Dunbar LM, Wunderink RG, Habib MP; Smith LG; Tennenberg AM; Khashab MM, Wiesinger BA, Xiang JX, Zadeikis N, Kahn JB. High-dose, short-course levofloxacin for community-acquired pneumonia: a new treatment paradigm. *Clin Infect Dis* 2003; 37:752-60.
60. Sutter VL, Citron DM, Finegold SM, Bricnell KS. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*. Department of Continuing Educational in Health Sciences, University Extension, and the School of Medicine, UCLA. California: C.V. Mosby Company, 1972.

-
61. 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.
62. Barza M, Giuliano M, Jacobus NV, Gorbach SL. Effect of broad-spectrum parenteral antibiotics on “colonization resistance” of intestinal microbiota of humans. *Antimicrob Agents and Chemother* 1987; 31:723-27.
63. Curi PR. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. 2nd ed. Botucatu: Tiponic; 1998.
64. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308:1635-38.
65. Isoulari E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(Suppl):S1142-S1165.
66. Owehand AC, Salminen S, Arvola T, Ruuska T, Isoulari E. Microbiota composition of the intestinal mucosa: association with fecal microbiota. *Microb Immunol* 2004; 48(7): 497-500.
67. Monreal MTFD. Microbiota intestinal em pacientes com infecções bacterianas do trato respiratório tratados com amoxicilina. Tese de doutorado 2003; Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.
68. Souza ME. Avaliação da microbiota intestinal de indivíduos que sofreram acidente ocupacional com materiais biológicos que realizaram profilaxia anti-retroviral. Tese de mestrado, 2007; Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

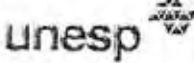
-
69. Woodmansey EJ, McMurdo, M.E, Macfarlane GT, Macfarlane S. Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young and in non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Env microbial* 2004; 70: 6113-22.
70. Estatuto do Idoso. Lei nº 10741, de 1º de outubro de 2003.
71. Lordello MJ. El tabaco y su influencia em el periodonto. *Avan Periodon Implantol* 2005; 17(1):221-28.
72. Echeverria-Garcia JJ. Enfermedades periodontales y periimplantarias: factores de riesgo y su diagnostico. *Avan Periodon Implantol* 2003; 15(3):149-56.
73. Gaetti-Jardim Jr E, Zanoli T, Pedrini D. O tabagismo como fator de risco para as doenças periodontais: aspectos microbiológicos. *Rev Odont USP* 1998; 12(4):315-321.
74. Kantorski KZ, Souza DM, Yujra VQ, Junqueira JC; Jorge AOC, Rocha RF. Effect of on alcoholic diet on dental caries ando n *Streptococcus* of the *mutans* group: study in rates. *Braz Oral Resear* 2007; 21(2):101-5.
75. Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P. Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. *Environm Microb* 2007; 9(5):1101-11.
76. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JL. The gut microbiota as an environmental factor that redulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(44):15718-23.
77. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microbiota in infants in whom atopy was not developing. *J Aller Clin Immunol* 2001; 107:129-34.

-
78. Osborn DA, Sinn JK. Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochran Dat Syst Rev* 2007; 4:CD006475.
79. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allerg* 1999; 29(3):342-6.
80. Songjinda P, Nakayama J, Tateyama A, Tanaka S, Tsubouchi M, Kiyohara C, Shirakawa T, Sonomoto K. Differences in developing intestinal microbiota between allergic and non-allergic infants: a pilot study in Japan. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; 71(9):2338-42.
81. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lanc* 2003; 361:512-19.
82. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Bauche V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, Loschs H. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroent* 2002; 122(1):228-30.
83. Shamsiev FM. Microbial intestinal disturbances in children with frequent acute complicated pneumonia. *Lik Sprav* 2001; 2:84-6.
84. 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(12):899-903.
85. Edlund C, Nord CE. Effect on the human normal microflora of oral antibiotics for treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemoth* 2000; 46 (Suppl 1):41-8.
86. Inagaki Y, Nakaya R, Chida T, Hashimoto S. The effect of levofloxacin, an optically-active isomer of ofloxacin, on fecal microflora in human volunteers. *Japan J Antib* 1992; 45(3):241-52.

-
87. Rocha RT, Vital AC, Silva COS, Pereira CAC, Nakatami J. Pneumonia adquirida na comunidade em pacientes tratados ambulatorialmente: aspectos epidemiológicos, clínicos e radiológicos das pneumonias atípicas e não atípicas. *J Pneumol* 2007; 26(1):5-14.
88. Corrêa RA, Lopes RM, Oliveira LMG, Campos FTAF, Reis MAS, Rocha MOC. Estudo de casos hospitalizados por pneumonia comunitária no período de um ano. *J Pneumol* 2001; 27(5):243-48.
89. Toinavanen P. Normal intestinal microbiota in the aetiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(9):807-11.
90. Edlund C, Sjöstedt S, Nord CE. Comparative effects of levofloxacin and ofloxacin on the normal oral and intestinal microflora. *Scand J Infect Dis* 1997; 29:383-86.

ANEXO

Anexo 01



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde em 30 de
abril de 1997



Botucatu, 05 de dezembro de 2.005

OF. 437/2005-CEP


Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira
Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Paulo Câmara,

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa "Efeito da levofloxacina na microbiótica intestinal de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade" de autoria de Ângela Maria Pinto da Silva, orientada por Vassa Senhora, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 05 de dezembro de 2.005.

Situação do Projeto: APROVADO.

Atenciosamente,



Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

APÊNDICES

Apêndice 01

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título: Efeito da levofloxacina na microbiota intestinal de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade.

Justificativa: Todas as pessoas possuem microrganismos no intestino que ajudam a evitar doenças e participam de várias reações que trazem benefícios aos seres humanos. Porém, quando ocorre a pneumonia, há necessidade de se utilizar medicamentos, como antibióticos. Estes medicamentos podem levar a uma diminuição dos microrganismos intestinais e o restabelecimento do indivíduo pode ser dificultado.

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

Procedimentos: Solicitamos a sua participação neste estudo para podermos avaliar a presença e a quantidade de alguns microrganismos no seu intestino. Para isto há necessidade que nos forneça pequena quantidade de fezes, sangue e algumas informações.

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

Vale salientar que estes exames não acarretam nenhum risco para o paciente, apenas o desconforto das coletas de fezes e sangue.

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

Este termo de consentimento foi elaborado de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional da 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
Praça da Bandeira, 151 apt/51, Centro – Lins, SP – CEP 16400-214

Pesquisador: Ângela Mara Pinto da Silva
Fone: (14) 352230043

Apêndice 02**Características Sócio-demográficas****01 – Identificação:**

Número do RG:.....

02 – Dados pessoais:

Nome:.....

Estado Civil:.....Sexo:..... Cor:.....

Data de Nascimento:...../...../..... Idade:.....

Endereço:.....Nº

Complemento:.....Bairro:.....Cidade:.....

Telefone:.....Naturalidade:.....

03 – Avaliação clínica

Hipótese diagnóstica:.....

Antecedentes familiares:.....

Outras doenças associadas:.....

04 – Consumo de bebidas alcoólicas e tabaco

Etilismo: () Sim Tipo:..... Freqüência:.....

() Não

Tabagismo: () Sim Tipo:..... Freqüência:.....

() Não

05 – Tratamento medicamentoso

Medicamentos prescritos:.....

.....

06 – Dados antropométricos

Peso: Altura:

IMC (Kg/m²)

Apêndice 03

Condição Sócio-econômica-cultural

I – Educação

Educação	Analfabeto	
	Ensino Fundamental Incompleto	
	Ensino Fundamental Completo	
	Ensino Médio Incompleto	
	Ensino Médio Completo	
	Superior Incompleto	
	Superior Completo	

II – Composição Familiar

Pessoas na Residência	Pai <input type="text"/>
	Mãe <input type="text"/>
	Marido <input type="text"/>
	Filhos <input type="text"/> Quantos?.....
	Outros Familiares <input type="text"/> Quantos?.....
	Total:

III – Renda Familiar

Renda Familiar	Própria	R\$.....
	Conjuge	R\$.....
	Outra(s):	R\$.....
	Total	R\$.....

IV – Ocupação

Ocupação		Ativo	Inativo
	Trabalhador Intelectual: administrativos; cientistas e artistas; técnicos	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Trabalhadores agricultores: agropecuários e produção extrativa vegetal e animal	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Trabalhadores da área de serviços: serviço de eletricidade; comércio; transporte; comunicações; prestação de serviços; escritório; segurança pública e defesa nacional	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Trabalhadores operários: extrativa mineral; mecânica, metalúrgica e material elétrico; construção civil; alimentação, bebidas e cigarros; têxtil e curtição de couro; vestuário e artefatos de couro; madeira e móveis; papel e papelão; gráfica; cerâmica e vidro; jóias e instrumentos de precisão; artefatos de borracha e plástico; movimentos de cargas.	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Trabalhadores braçais: trabalhadores braçais e domésticos	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Estudante	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Outros:	<input type="text"/>	<input type="text"/>

V – Assistência à Saúde

Assistência à Saúde	Sistema Único de Saúde	<input type="text"/>
	Plano de Saúde	<input type="text"/>
	Qual o Plano de Saúde?	

VI – Bens e apoio doméstico

Bens e Apoio Doméstico		Não	Sim	Quantos?
	Automóvel			
	Televisor a cores			
	Rádio			
	Máquina de lavar roupa			
	Vídeo Cassete ou DVD			
	Aspirador de pó			
	Geladeira			
	Empregada mensalista			
	Banheiro			

VII – Habitação

Habitação	Bairro em que mora?		
	Área	Urbana <input type="checkbox"/>	Rural <input type="checkbox"/>
	Casa própria	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Casa alugada	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Casa emprestada	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Água tratada	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Água de poço	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Esgoto	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Fossa	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Energia Elétrica	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Rua asfaltada	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
	Destino do lixo	Coleta pública <input type="checkbox"/>	Enterra/ Queima/ <input type="checkbox"/> Joga em terreno baldio

Apêndice 04

Paciente:

Microorganismo	Momento 2 (diluições)						Momento 2 (diluições)						Momento 3 (diluições)					
	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
<i>Bacteroides</i>																		
<i>Bifidobacterium</i>																		
<i>Lactobacillus</i>																		

Microorganismo	M 1	M 2	M3
<i>Bacteroides</i>			
<i>Bifidobacterium</i>			
<i>Lactobacillus</i>			

Apêndice 05

Contagem de *Bacteroides* em fezes de pacientes com PAC

Paciente	Sexo	Idade	M ¹	M ²	M ³
1	F	64	3,04 x 10 ⁸	1,84 x 10 ⁸	2,05 x 10 ¹¹
2	M	76	6,27 x 10 ⁸	4,48 x 10 ⁹	3,97 x 10 ⁹
3	F	27	8,25 x 10 ⁸	4,56 x 10 ⁹	2,77 x 10 ¹⁰
4	M	50	6,36 x 10 ⁶	1,18 x 10 ¹¹	6,38 x 10 ¹⁰
5	F	54	1,88 x 10 ¹⁰	2,00 x 10 ¹¹	2,10 x 10 ¹¹
6	F	58	1,64 x 10 ⁹	1,24 x 10 ¹¹	1,42 x 10 ¹⁰
7	F	44	1,56 x 10 ¹¹	5,90 x 10 ¹⁰	2,70 x 10 ¹¹
8	F	42	3,52 x 10 ¹¹	1,27 x 10 ¹¹	7,70 x 10 ¹⁰
9	M	30	3,09 x 10 ¹⁰	2,65 x 10 ¹⁰	2,57 x 10 ¹¹
10	M	35	3,47 x 10 ⁹	4,42 x 10 ⁹	4,10 x 10 ⁹
11	M	39	7,85 x 10 ⁹	6,45 x 10 ⁹	8,07 x 10 ⁹
12	F	29	7,39 x 10 ⁹	3,49 x 10 ¹⁰	6,81 x 10 ⁹
13	F	33	8,92 x 10 ¹⁰	2,73 x 10 ¹¹	4,21 x 10 ¹⁰
14	F	57	7,08 x 10 ¹⁰	2,95 x 10 ¹¹	3,63 x 10 ¹⁰
15	M	61	2,88 x 10 ¹⁰	4,01 x 10 ¹⁰	2,46 x 10 ¹⁰

F = feminino M = masculino

Apêndice 06

Contagem de *Bifidobacterium* em fezes de pacientes com PAC

Paciente	Sexo	Idade	M ¹	M ²	M ³
1	F	64	2,81 x 10 ⁹	6,57 x 10 ¹⁰	2,32x 10 ¹¹
2	M	76	1,0 x 10 ⁹	2,96 x 10 ⁹	6,93 x 10 ⁹
3	F	27	1,57 x 10 ⁸	5,83 x 10 ⁷	9,03 x 10 ⁸
4	M	50	6,73 x 10 ⁹	5,11 x 10 ⁹	1,19 x 10 ¹⁰
5	F	54	2,15 x 10 ⁹	1,91 x 10 ¹⁰	4,87 x 10 ¹⁰
6	F	58	9,69 x 10 ⁹	1,79 x 10 ¹⁰	6,13 x 10 ⁹
7	F	44	6,33 x 10 ⁹	2,3 x 10 ¹⁰	1,16 x 10 ⁹
8	F	42	2,98 x 10 ⁸	2,77 x 10 ⁸	1,65 x 10 ⁹
9	M	30	3,34 x 10 ¹⁰	7,43x 10 ⁸	2,87 x 10 ¹⁰
10	M	35	3,25 x 10 ⁸	7,23 x 10 ⁸	4,01 x 10 ⁹
11	M	39	3,19 x 10 ⁹	3,96 x 10 ⁹	2,03 x 10 ¹⁰
12	F	29	7,08x 10 ⁸	1,86 x 10 ⁸	7,81 x 10 ⁸
13	F	33	2,15 x 10 ¹⁰	4,08 x 10 ⁸	1,73 x 10 ⁹
14	F	57	3,02 x 10 ¹⁰	3,64 x 10 ⁹	1,29 x 10 ¹⁰
15	M	61	2,51 x 10 ⁹	5,84 x 10 ⁸	8,42 x 10 ⁹

F = feminino M = masculino

Apêndice 07

Contagem de *Lactobacillus* em fezes de pacientes com PAC

Paciente	Sexo	Idade	M ¹	M ²	M ³
1	F	64	1,74 x 10 ⁹	9,53 x 10 ⁸	1,75 x 10 ⁹
2	M	76	1,00 x 10 ⁵	5,70 x 10 ⁶	1,10 x 10 ⁸
3	F	27	3,10 x 10 ⁶	1,43 x 10 ⁷	1,23 x 10 ⁸
4	M	50	1,74 x 10 ¹⁰	5,33 x 10 ⁹	3,96 x 10 ¹⁰
5	F	54	1,40 x 10 ⁸	6,60 x 10 ⁹	1,40 x 10 ¹⁰
6	F	58	5,60 x 10 ⁷	1,43 x 10 ⁷	6,40 x 10 ⁷
7	F	44	1,64 x 10 ⁸	1,00 x 10 ⁵	3,52 x 10 ⁶
8	F	42	1,07 x 10 ⁷	4,89 x 10 ⁶	1,92 x 10 ⁷
9	M	30	2,71 x 10 ⁹	1,40 x 10 ⁸	3,52 x 10 ⁹
10	M	35	2,87 x 10 ⁷	3,03 x 10 ⁷	1,81 x 10 ⁹
11	M	39	6,95 x 10 ⁶	1,35 x 10 ⁹	1,21 x 10 ¹⁰
12	F	29	2,28 x 10 ⁷	7,72 x 10 ⁶	4,76 x 10 ⁷
13	F	33	2,43 x 10 ⁹	1,46 x 10 ⁸	1,47 x 10 ⁹
14	F	57	7,28 x 10 ⁸	4,52 x 10 ⁸	9,81 x 10 ⁸
15	M	61	6,02 x 10 ⁸	2,43 x 10 ⁸	4,98 x 10 ⁹

F = feminino M = masculino

Apêndice 08

Contagem de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em fezes de doadores de sangue (CG)

Doador	Sexo	Idade	<i>Bacteroides</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>
1	F	42	$6,75 \times 10^{10}$	$2,43 \times 10^{10}$	$4,14 \times 10^{10}$
2	M	30	$4,56 \times 10^{10}$	$7,85 \times 10^8$	$3,58 \times 10^8$
3	M	27	$6,43 \times 10^{10}$	$5,80 \times 10^{10}$	$1,85 \times 10^9$
4	M	39	$1,22 \times 10^{11}$	$7,22 \times 10^{10}$	$5,09 \times 10^9$
5	M	23	$2,74 \times 10^{11}$	$4,21 \times 10^{10}$	$5,29 \times 10^9$
6	F	36	$4,98 \times 10^{11}$	$1,25 \times 10^{10}$	$1,10 \times 10^9$
7	M	28	$2,13 \times 10^{10}$	$2,48 \times 10^{10}$	$7,51 \times 10^9$
8	F	25	$8,98 \times 10^{10}$	$6,34 \times 10^9$	$1,64 \times 10^8$
9	M	21	$2,08 \times 10^9$	$4,67 \times 10^9$	$1,51 \times 10^7$
10	M	43	$1,95 \times 10^{12}$	$2,23 \times 10^{11}$	$5,71 \times 10^9$
11	F	33	$2,01 \times 10^{10}$	$3,47 \times 10^8$	$3,49 \times 10^8$
12	M	32	$4,16 \times 10^{11}$	$3,01 \times 10^9$	$3,48 \times 10^8$
13	F	29	$6,04 \times 10^9$	$6,58 \times 10^8$	$1,76 \times 10^8$
14	M	45	$2,92 \times 10^{11}$	$7,19 \times 10^{10}$	$2,71 \times 10^{10}$
15	M	38	$3,05 \times 10^{10}$	$1,87 \times 10^8$	$4,94 \times 10^7$

F = feminino M = masculino