**VIABILIDADE DE IMPLANTAÇÃO E
SOBREVIVENCIA DE LACTOBACILOS
NO TRATO INTESTINAL DE HUMANOS
ADULTOS**

GERSISLEI ANTONIA SALADO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: "Ciência e Tecnologia de Alimentos".

**PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 1990**

**VIABILIDADE DE IMPLANTAÇÃO E
SOBREVIVENCIA DE LACTOBACILOS
NO TRATO INTESTINAL DE HUMANOS
ADULTOS**

GERSISLEI ANTONIA SALADO
Nutricionista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antônio Joaquim de Oliveira

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: "Ciência e Tecnologia de Alimentos".

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 1990

**VIABILIDADE DE IMPLANTAÇÃO E
SOBREVIVENCIA DE LACTOBACILOS
NO TRATO INTESTINAL DE HUMANOS
ADULTOS**

Gersislei Antonia SALADO

APROVADA EM: 26 /11 /90

COMISSAO JULGADORA:

Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira

ESALQ-USP

Prof. Dr. Luiz Sanches

UNESP/Botucatu

Prof^A Dr^A Marilia Oetterer de Andrade

ESALQ-USP

Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira
Orientador

DEDICO

A meus pais

A minha irmã Isabel

*Ao Edison pelo
afeto e incentivo*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Doutor Antonio Joaquim de Oliveira, pela orientação e amizade.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia Agro Industrial da ESALQ-USP, pelos conhecimentos transmitidos.

A Universidade do Sagrado Coração de Bauru, por ceder os laboratórios e materiais para a realização do experimento.

A Professora Irmã Maria Isabel Leite, coordenadora do Departamento de Nutrifarma, da USC-Bauru, pelo apoio e confiança.

Ao Professor Ms. Holmes Campanelli Costa, da USC-Bauru pela preciosa colaboração.

A NESTLE Comercial e Industrial, pela oferta dos iogurtes.

As bibliotecárias Beatriz Helena Giongo e Midiam Gustinelli pela presteza e amizade.

As monitoras Francine Barros e Elisenda Galvão Santeli, pela ajuda na elaboração do experimento.

Ao Sr. José Vicente Johanssen, pela presteza e pontualidade na entrega dos produtos.

Aos voluntários participantes do experimento pela colaboração valiosa.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram com serviços prestados, ou como apoio humano no decorrer deste trabalho, os mais sinceros agradecimentos.

SUMARIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
 1. INTRODUÇÃO.....	 01
2. REVISAO DA LITERATURA.....	05
2.1. Processamento, composição química e valor nutricional do iogurte.....	 05
2.2. Composição da flora bacteriana intestinal.....	09
2.3. Ação dos lactobacilos sobre a flora intestinal..	13
2.4. Aspectos profiláticos e terapêuticos do iogurte.	20
3. MATERIAL E METODOS.....	29
3.1. Material.....	29
3.1.1. Indivíduos.....	29
3.1.2. Iogurte e leite.....	29
3.1.3. Meios de cultivos.....	31
3.1.3.1. TPPY - Eriochrome Agar.....	31
3.1.3.2. Meio para contagem total (PCA)..	30
3.1.3.3. Meio Agar de MacConkey.....	31
3.1.4. Solvente para preparar a diluição das amostras.....	 31
3.1.4.1. Peptona 1:1000.....	31
3.1.4.2. Triptona a 1,5%.....	32

3.2. Metodos.....	32
3.2.1. Seleção dos indivíduos.....	32
3.2.2. Procedimento experimental.....	36
3.2.3. Coletas das amostras.....	37
3.2.4. Preparo das amostras.....	37
3.2.5. Contagem de coliformes.....	38
3.2.6. Contagem total.....	38
3.2.7. Contagem de lactobacilos.....	39
3.2.8. Determinação do pH das amostras.....	39
3.2.9. Análise estatística.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSAO.....	41
4.1. Flora total.....	41
4.2. Coliformes totais.....	44
4.3. Lactobacilos totais.....	47
4.4. Análise do pH.....	51
4.5. Alterações intestinais.....	54
5. CONCLUSOES.....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	59
Bibliografia recomendada.....	74
APENDICE.....	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeito da ingestão de iogurte natural e iogurte + leite sobre a flora microbiana total nos grupos A e B.....	43
Figura 2 - Efeito da ingestão de iogurte natural e iogurte natural sobre o desenvolvimento de coliformes nos grupos A e B.....	46
Figura 3 - Efeito da ingestão de iogurte natural e iogurte natural + leite sobre o desenvolvimento de lactobacilos nos grupos A e B....	49
Figura 4 - Efeito da ingestão de iogurte natural e iogurte natural + leite sobre o pH das fezes nos grupos A e B.....	53
Ficha 1 - Questionário usado para fazer a seleção dos indivíduos participantes do experimento.....	90
Ficha 2 - Modelo do documento usado para atestar a concordância dos indivíduos em participar do experimento.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o tipo de tratamento.....	32
Tabela 2 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo a faixa etária.....	33
Tabela 3 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o sexo.....	34
Tabela 4 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o uso de medicamentos anteriores ao experimento.....	34
Tabela 5 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo alterações gástricas anteriores ao experimento.....	35
Tabela 6 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o número de refeições diárias.....	36
Tabela 7 - Resultados dos testes estatísticos para o desenvolvimento da flora total (U.F.C./ml) nos dois grupos experimentais.....	42

Tabela 8 - Resultados dos testes estatísticos para o desenvolvimento de coliformes totais (U.F.C./ml) nos dois grupos experimentais...	45
Tabela 9 - Resultados dos testes estatísticos para o desenvolvimento de lactobacilos (U.F.C./ml) nos dois grupos experimentais.....	48
Tabela 10 - Resultados dos testes estatísticos para o pH das fezes nos dois grupos experimentais.....	52
Tabela 11 - Distribuição dos indivíduos de acordo com as alterações apresentadas durante o experimento.....	54
Tabela 12 - Distribuição dos indivíduos segundo referência de melhora das condições intestinais pós experimento.....	55
Tabela 13 - Médias e desvio-padrão da contagem total nos dois grupos experimentais.....	78
Tabela 14 - Médias e desvio-padrão de coliformes nos dois grupos experimentais.....	79

Tabela 15 - Médias e desvio-padrão dos lactobacilos nos dois grupos experimentais.....	80
Tabela 16 - Médias e desvio-padrão do pH das fezes nos dois grupos experimentais.....	81
Tabela 17 - Grupo A - Contagem total de microorga- nismos PCA.....	82
Tabela 18 - Grupo A - Contagem de coliformes em MacConkey Agar.....	83
Tabela 19 - Grupo A - Contagem de lactobacilos em TPPY - Eriochrome Agar.....	84
Tabela 20 - Grupo A - pH das amostras.....	85
Tabela 21 - Grupo B - Contagem total em PCA.....	86
Tabela 22 - Grupo B - Contagem de coliformes em MacConkey Agar.....	87
Tabela 23 - Grupo B - Contagem de lactobacilos em TPPY - Eriochrome Agar.....	88
Tabela 24 - Grupo B - pH das amostras.....	89

VIABILIDADE DE IMPLANTAÇÃO E SOBREVIVENCIA DE
LACTOBACILOS NO TRATO INTESTINAL DE HUMANOS ADULTOS

AUTORA:

Gersislei Antonia Salado

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira

RESUMO:

Com o objetivo de estudar a viabilidade de implantação e a sobrevivência, além da ação dos lactobacilos no trato intestinal de humanos adultos, foram realizados dois tipos de tratamento, com duração de 45 dias ininterruptos.

Os indivíduos foram divididos em dois grupos designados grupo A e grupo B. O grupo A consumiu iogurte natural e o grupo B consumiu iogurte natural e leite "in natura" tipo C. Para avaliar a ação dos lactobacilos sobre a flora intestinal e sua permanência no trato digestivo, foram efetuadas análises microbiológicas periódicas das fezes dos indivíduos.

Os resultados obtidos, permitem concluir que os lactobacilos podem permanecer no intestino mesmo após a

interrupção da ingestão de iogurte, embora em números inferiores aos encontrados durante o período experimental, e que somente com ingestão diária desse produto será possível sua persistência exercendo efeito controlador sobre a flora intestinal.

VIABILITY OF IMPLANTATION AND SURVIVAL OF
LACTOBACILLI IN THE ADULT HUMAN INTESTINAL TRACT

AUTHOR:

Gersislei Antonia Salado

ADVISER:

Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira

SUMMARY:

With the objective of studying the possibility of the implantation and subsequent survival - as well as the action - of lactobacilli in the adult human intestinal tract, two types of treatment were administered during 45 uninterrupted days.

The individual werw divided into two groups, designated as group A and group B. Group A consumed natural yogurt, while group B consumed natural yogurt plus ordinary milk (called type C, in Brazil).

In order to evaluate the effect of the lactobacilli on the intestinal flora and the permanence of such in the digestive tract, microbiological analyses were effected upon the feces of the same individuals.

The results obtained permit to conclude that the lactobacilli may remain in the intestine even after interrupting the yogurt intake, though in smaller numbers than previously encountered during the experimental period, and that only with the daily intake of the said product is any permanence made possible, as well as the exercise of any controlling effect upon the intestinal flora.

1. INTRODUÇÃO

A natureza complexa da população bacteriana intestinal é dada por uma variedade de espécies e por diversos fatores, envolvendo seu desenvolvimento e manutenção. Nesse complexo sistema ecológico, organismos aeróbicos e anaeróbicos vivem em simbiose com seu hospedeiro propiciando benefícios mútuos.

DONALDSON (1964a), afirmou que mais de 60 espécies já foram isoladas do intestino de animais, incluindo o homem. São organismos com grande variedade de morfologia e características bioquímicas.

As espécies mais frequentes são os bacteróides, enterobactérias, *E. coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Klebsiella*, enterococos, *Lactobacilos*, *Pseudomonas* e *Clostridia*, em adição a numerosas espécies que podem aparecer devido a serem habitantes da boca e do trato respiratório.

O conteúdo do estômago e do intestino delgado proximal parece ser estéril ou pouco colonizado por bacté-

rias. Quando são isolados do intestino delgado, essas bactérias são consideradas como contaminantes transportadas da boca e do trato respiratório para o intestino.

Nos animais jovens alimentados com leite, predomina a flora bífida, constituída por *Lactobacilos bifidus*. A medida que a alimentação se modifica, vão desaparecendo os lactobacilos e tomam lugar as enterobactérias.

Muitos pesquisadores afirmam que embora os lactobacilos sejam grandes representantes da flora da boca, não são encontrados habitualmente no intestino de humanos adultos.

Embora os microorganismos da flora intestinal vivam em equilíbrio, existem condições que podem romper esse equilíbrio, como por exemplo a presença de patógenos, ou o uso indiscriminado de antibióticos.

Os antibióticos usados indevidamente, matam as bactérias que são normais no intestino e permitem maior crescimento de "strains" patogênicos, causadores de doenças. As bactérias gram-negativas, agindo sobre resíduos alimentares fazem com que haja produção de amônia, que sendo absorvida pela corrente sanguínea, pode causar sérias complicações à saúde.

Pesquisas recentes enfatizam a importância dos lactobacilos para restituir e manter o equilíbrio da flora intestinal. Esses microorganismos não provocam a formação de amônia e ainda exercem efeito antagônico sobre patógenos intestinais.

Apesar de o estômago funcionar como barreira ácida para muitos microorganismos, muitos trabalhos sugerem que os lactobacilos transitam vivos até o intestino delgado e podem aumentar a resistência do organismo às desordens intestinais.

GILLILAND *et alii* (1978) e SANDINI (1979), sugeriram que incluindo leites fermentados na alimentação habitual, a flora bacteriana intestinal pode ser benéficamente modificada. Isto é devido à ação dos lactobacilos, que produzindo ácido láctico, exercem efeito antagônico sobre as bactérias gram-negativas, prevenindo o aparecimento de muitas complicações gastrointestinais.

A crença sobre o efeito benéfico dos lactobacilos para a saúde humana, existiu por muitas civilizações ao longo do tempo.

Metchnikoff (1903) citado por muitos pesquisadores, escreveu sobre os efeitos das bactérias lácticas para o homem, e atribuiu a longevidade dos búlgaros ao alto consumo de leites fermentados.

O uso do iogurte como terapia auxiliar em muitos casos de complicações intestinais vem aumentando notoriamente. Atualmente é muito usado também como preventivo do desequilíbrio da flora intestinal nas terapias prolongadas com uso de antibióticos.

Embora a literatura seja conflitante e controvertida, a respeito da sobrevivência dos lactobacilos no intestino, muitos pesquisadores afirmam que eles transitam

vivos pelo trato intestinal, e com uma ingestão continuada de produtos que contenham esses microorganismos viáveis, eles poderiam se implantar no intestino.

Nutricionalmente os lactobacilos são associados à síntese de vitaminas do complexo B, à síntese de enzimas, que resultam na hidrólise parcial de proteínas, de gorduras e de lactose, aumentando o valor biológico e a digestibilidade dos leites fermentados, e por seu efeito antiolesterolêmico. Os lactobacilos são produtores de antibióticos e outras substâncias antagônicas a muitos patógenos intestinais.

O objetivo deste trabalho foi estudar a implantação e a sobrevivência dos lactobacilos no trato intestinal de humanos adultos, sadios, através da ingestão diária de iogurte industrializado contendo os microorganismos vivos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Processamento, composição química e valor nutricional do iogurte

O iogurte é um leite fermentado obtido pela ação de bactérias lácticas específicas associadas, o *Lactobacillus bulgaricus* e o *Streptococcus thermophilus*.

O leite para produção de iogurte deve ser previamente pasteurizado para eliminar a flora microbiana existente, e permitir a completa ação das bactérias lácticas.

Após a fermentação o iogurte não deve sofrer nenhum tipo de processamento térmico para não destruir os lactobacilos. A Norma de Alimentos impõe que o produto deve conter até o momento do consumo mais de 100 milhões de microorganismos vivos por grama de iogurte.

PULUSANI e RAO (1984), enfatizaram que o *Lactobacillus bulgaricus* e o *Streptococcus thermophilus*, exibem uma monointeração obrigatória que é favorável ao

crescimento e a ação dos dois microorganismos, fornecendo qualidades nutricionais e terapêuticas ao iogurte.

TAMINE e DEETH (1980), demonstraram que muitas mudanças bioquímicas importantes ocorrem durante a fabricação do iogurte, sendo que as principais são: metabolismo de carboidratos com produção de ácido lático, produção do "flavor" pelos componentes carbonados como o acetaldeído, acetona, diacetil e acetoina, protéólise liberando aminoácidos e peptídeos de baixo peso molecular, atribuída principalmente ao *Lactobacillus bulgaricus*, lipólise liberando ácidos graxos, que também contribuem para as características do produto.

DEETH e TAMINE (1981), afirmaram que na composição o iogurte é similar ao leite. O iogurte no entanto é diferente devido às mudanças ocorridas pela fermentação bacteriana sobre a lactose, pela adição de leite em pó, que é feito para aumentar o teor de sólidos do leite, o que permite aumentar o conteúdo de proteínas e pelos aditivos flavorizantes.

DRIESSEN *et alii* (1982), sugeriram que as bactérias lácticas no leite, obtêm interações favoráveis a ambos, o *Lactobacillus bulgaricus* e o *Streptococcus thermophilus*. O *Lactobacillus bulgaricus* produz aminoácidos livres e peptídeos por sua ação sobre as proteínas, esses compostos estimulam o crescimento do *Streptococcus thermophilus*. Por outro lado, a produção de ácido pelo *L. bulgaricus* é estimulada por compostos produzidos pelo *S. thermophilus* na

ausência de oxigênio. Durante a fermentação são produzidos muitos compostos que contribuem para o aroma e o sabor característico do iogurte.

AYEBO e SANDINI (1980), sugeriram que os compostos produtores do "flavor" e aroma do iogurte consistem de acetaldeído, diacetil, acetoina (acetil metil carbinol), acetona e 2-butanona. O acetaldeído é o principal componente do "flavor" do iogurte. O *L. bulgaricus* é o microorganismo que mais produz acetaldeído, e quando associado ao *S. thermophilus* para a produção de iogurte, a média de produção de acetaldeído aumenta consideravelmente, em comparação à quantidade que produz isolado. A degradação da lactose é considerada como a fonte primária do acetaldeído no iogurte.

RASIC e KURMAN (1978), demonstraram que mudanças importantes ocorrem com o teor de vitaminas durante o processamento do iogurte, devidas principalmente à atividade biossintética das bactérias lácticas. Podem influenciar no teor de vitaminas também o tipo de processamento, e as condições de armazenamento.

As vitaminas do Complexo B, tanto podem aumentar como podem diminuir, devido à ação dos lactobacilos. A tiamina (B₁) e a riboflavina (B₂), diminuem em média entre 20 e 30%, devido ao crescimento bacteriano.

Estes autores reconhecem que os dados sobre vitaminas são conflitantes, pois existem outros trabalhos que demonstram que estas vitaminas podem aumentar devido à atividade biossintética dos lactobacilos. Essas mudanças

podem também ser devido à composição do leite de diferentes regiões.

RASIC e KURMAN (1978), observaram ainda que a niacina sofre pequeno decréscimo durante o preparo do iogurte, devido à atividade metabólica das culturas. O ácido pantotênico é estável durante o processamento, diminuindo pouco durante a coagulação, a piridoxina e a biotina também diminuem. No entanto a colina aumenta em 15 a 16%, devido a habilidade sintetizante especialmente dos estreptococos.

Os *Lactobacillus bulgaricus* necessitam de cianocobalamina (B₁₂) para seu crescimento, sendo atribuído a eles o decréscimo desta vitamina no iogurte.

Existem evidências de que a folacina diminui com o processamento térmico do leite, mas aumenta consideravelmente durante a preparação do iogurte, devido à biossíntese.

A fermentação do leite resulta em decomposição da lactose, e formação do ácido láctico, aumento de peptídeos e aminoácidos pela degradação de proteínas, ácidos graxos livres pela hidrólise de gorduras e consumo de certas vitaminas e síntese de outras. A digestibilidade das proteínas é melhorada devido à fermentação láctica, que induz à precipitação da caseína em peptídeos de baixo peso molecular, facilitando a ação das enzimas digestivas.

A adição de leite em pó, ou concentrados protéicos como os caseinatos, são procedimentos comuns na

fabricação do iogurte, contribuindo para aumentar seu valor nutricional.

A homogeneinização do leite para o preparo do iogurte quebra os glóbulos de gordura em partículas menores, e facilita a sua digestão. Durante a preparação do iogurte as lipases bacterianas hidrolisam as gorduras, resultando em ácidos graxos livres, facilitando sua absorção. O iogurte é uma rica fonte de cálcio, sendo muito recomendado a gestantes e lactantes, podendo ainda ser fortificado pela adição de carbonato de cálcio ou gluconato de cálcio.

2.2. Composição da flora bacteriana intestinal

O trato digestivo é colonizado logo após o nascimento por uma variedade enorme de microorganismos. As bactérias predominantes na flora intestinal de animais jovens são os lactobacilos. A ocorrência de lactobacilos no trato intestinal continua através da vida do hospedeiro, mas um grande número de fatores influencia a sua presença. A medida que o animal cresce sua alimentação se modifica e os lactobacilos desaparecem dando lugar às enterobactérias.

DAVIS (1955), estudou e classificou os lactobacilos da boca, e sugeriu que estes podem habitar também o intestino, sendo ingeridos com os alimentos.

DACK e PETRAN (1934), estudaram a atividade bacteriana de diferentes locais do intestino. Concluíram que o estômago pode ser uma barreira ácida, mas que depende muito

do tipo de alimento ingerido e sua ação sobre o pH gástrico. No duodeno a presença de bactérias pode ser devido à sua ingestão com o alimento, uma vez que algumas horas após a alimentação o intestino delgado se mostrou praticamente estéril. A rica flora do íleo terminal eles atribuíram ao refluxo do conteúdo fecal, através da válvula ileocecal, sendo que o cólon representa o local de maior atividade bacteriana.

HAENEL (1961), pesquisou a ecologia da microflora intestinal do homem. Ao nascer a flora predominante é de *Lactobacillus bifidus*, que vão cedendo lugar a outros tipos de microorganismos à medida que a alimentação se diversifica ou quando ocorre o desmame da criança. Já no adulto predomina a flora coliaérogena. Esse autor propôs o termo microbiocenose para caracterizar a microflora típica do organismo, ou de parte do organismo. A situação de balanço que naturalmente ocorre em organismos sadios é chamada eubiose, e em condições de distúrbios da microbiocenose, é chamada disbiose.

GRAY e SHINER (1963), investigaram a influência do pH gástrico sobre a flora intestinal. Concluíram que poucas bactérias sobrevivem ao meio gástrico, pois três a quatro horas após a digestão o estômago é praticamente estéril.

DONALDSON (1964b), estudando a flora intestinal de humanos verificou que o cólon é o local colonizado pela maioria das bactérias isoladas. Os anaeróbicos não esporógenos estão usualmente presentes em grandes

quantidades, variando de 10^7 a 10^{12} microorganismos por grama de fezes. As enterobactérias e coliaerógenos são encontrados variando de 10^8 a 10^{10} por grama de fezes, enquanto *Proteus*, enterococos, lactobacilos, *Pseudomonas*, são frequentes, mas nem sempre isoladas do cólon, ou de fezes de pessoas saudáveis, e ocorrem em concentrações abaixo de 10^8 por grama de fezes.

KALSER *et alii* (1966), enfatizaram que no intestino delgado o crescimento bacteriano é discreto, e que os microorganismos são contaminantes ingeridos com os alimentos. Os microorganismos encontrados com maior frequência são lactobacilos, *Aerobacter aeogenes* e *Clostridia*.

GORBACH *et alii* (1967), fizeram estudos sobre a colonização bacteriana do intestino delgado e observaram que o número de bactérias deste local é bem pequeno, principalmente no duodeno e íleo proximal. O estudo demonstrou ausência de coliformes no intestino delgado. O número de microorganismos aumenta e há diversificação dos tipos no íleo distal. Neste local foram encontrados coliformes, lactobacilos e bacteróides, devido ser esta uma zona de transição para o cecum.

GUNTER e RUEC (1967), estudando a flora do intestino delgado, observaram que a predominância foi de estreptococos, estafilococos, lactobacilos e fungos. Esses microorganismos são capazes de resistir à acidez do estômago, e estão presentes no duodeno e médio íleo, embora em pequenos números. Sugerem ainda que a acidez gástrica é determinante da flora sobrevivente.

DRASAR *et alii* (1969), fizeram estudos sobre a composição da flora de adultos sadios. Concluíram que a maior parte dos microorganismos que cresceram do intestino foram bactérias anaeróbicas, não esporógenas e o estômago foi estéril na maior parte dos indivíduos. Apenas em indivíduo portador de acloridria foram encontradas algumas colônias bacterianas. Concluíram, que a acidez gástrica pode influenciar a passagem de bactérias da boca para o intestino.

GIANNELLA *et alii* (1972), fizeram estudos "in vivo" e em "in vitro", sobre a ação da barreira gástrica à sobrevivência de microorganismos em indivíduos normais e aclorídricos. Sugeriram que o suco gástrico é um potente bactericida com pH em torno de 4,0 ou menor. Os resultados "in vitro" demonstraram que com pH menor que 4,0, o ácido clorídrico mata 99,9% das bactérias em meia hora, já nos indivíduos portadores de acloridria foram encontrados grande crescimento bacteriano no conteúdo gástrico, incluindo coliformes, devido ao pH gástrico mais elevado.

THOMASON *et alii* (1981), investigaram a influência da má nutrição sobre a mucosa gástrica, e concluíram que a secreção de ácido gástrico diminui nestas condições, a proteção exercida pela barreira gástrica fica prejudicada, e permite a contaminação do intestino delgado através da alimentação.

2.3. A ação dos lactobacilos sobre a flora intestinal

O intestino contém um sistema ecológico complexo de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos que vivem em simbiose com seu hospedeiro.

DAVIS (1959), estudou a composição da flora da boca e verificou que os lactobacilos são os microorganismos predominantes neste local. Enfatizou seu papel na proteção contra cáries dentárias e sugeriu seu efeito benéfico também para proteção do intestino.

VINCENT (1959), demonstrou que os *Lactobacillus acidophilus* produzem antibióticos como o "acidophilin" e o "lactobacilin", e que essas substâncias poderiam inibir o crescimento de patógenos intestinais.

BECK e NECHELIS (1961), sugeriram que muitos microorganismos da flora intestinal podem sintetizar nutrientes para sua sobrevivência e para proteção do hospedeiro. Muitas dessas bactérias vivem juntas no intestino em certo equilíbrio. Porém existem condições que podem quebrar esse equilíbrio como a presença de patógenos, ou o uso indevido de antibióticos. Enfatizaram que o uso de lactobacilos pode reequilibrar a flora. Demonstraram que o *L. acidophilus*, difere do *L. bulgaricus*, principalmente por ser habitante normal do intestino.

DONALDSON (1964c), afirmou que a função anormal do intestino tem sido observada em numerosas condições, caracterizadas por excessiva proliferação de

bactérias entéricas. A anemia macrocítica, má absorção de vitamina B₁₂ e a esteatorréia, com frequência estão associadas a essas anormalidades. O uso de antibióticos decresce o número de bactérias do intestino delgado e do cólon, podendo mesmo eliminar a *Escherichia coli*. Sob certas condições severas a diarréia pode ser causada até por espécies bacterianas consideradas normais no intestino. Este autor enfatiza ainda que a dieta é um determinante nos tipos de bactérias que ocorrem no intestino, e que os lactobacilos aumentam nas fezes quando a alimentação é rica em lactose e leites fermentados.

TRAMER (1966) e KAO *et alii* (1966), sugeriram que o ácido láctico reduz o pH do meio intestinal, sendo o responsável pela atividade bacteriostática dos lactobacilos.

DRASAR e SHINER (1969), em estudos feitos com pacientes, demonstraram que a barreira gástrica influencia a passagem de bactérias da boca para o intestino, mas os lactobacilos foram encontrados em 91,5%, das amostras analisadas. Embora a acidez gástrica diminua a viabilidade de muitos microorganismos, os lactobacilos sobrevivem por muito tempo.

SANDINI *et alii* (1972), reafirmaram a importância do *L. acidophilus* para recompor e restabelecer o balanço da flora microbiana intestinal, prejudicada por diarréias provocadas pela *E. coli* enteropatogênica.

GILLILAND e SPECK (1975), mostraram a importância dos lactobacilos para manter o balanço da flora

intestinal de humanos sadios, e que a terapia envolvendo esses microorganismos tem sido benéfica para tratar muitas desordens intestinais.

SPECK (1975), afirmou que os lactobacilos e outras bactérias do ácido láctico tem sido envolvidas intimamente com o homem. O renovado interesse no papel da microflora intestinal tem enfocado os lactobacilos, particularmente o *L. acidophilus* pela sua capacidade de colonizar o trato intestinal.

SUZUKI (1975), sugeriu que os *L. bulgaricus* exercem efeito antibacteriano sobre patógenos intestinais.

Mikolajcik e Handan¹ citados por GILLILAND (1977), observaram a produção de antibióticos em leite a 37°C. Eles atribuíram a ação antagônica produzida pelos lactobacilos sobre outras bactérias, à produção de peróxido de hidrogênio, à produção de ácido láctico e de antibióticos.

GILLILAND e SPECK (1977), sugeriram que o *Lactobacillus acidophilus* exerce ação antagônica sobre o crescimento de *Stafilococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* enteropatogênica, e ainda *Clostridium perfringens*. Certas espécies de lactobacilos parecem ser mais importantes em sua propriedade de manter o balanço entre os microorganismos do trato intestinal. Enfatizaram ainda que o consumo de grande número de células viáveis do *L. acidophi-*

¹ - MIKOLAJCIK, E.M. e HANDAN, I.Y. *Lactobacillus acidophilus*. II - Antimicrobial agents. *Cultured Dairy Products J.* 10(1):18-20, 1975.

lus, tem sido usada para restabelecer a flora intestinal normal, acompanhando a terapia com antibióticos.

GILLILAND *et alii* (1978), demonstraram que mesmo a ingestão de *L. acidophilus* sendo pequena, eles podem aparecer nas fezes, a exercer ação antagônica sobre o crescimento de patógenos causadores de enterites.

EVANS *et alii* (1978) e POZO-OLANO *et alii* (1978), afirmaram que os lactobacilos entram no intestino delgado através do alimento, e podem colonizar o íleo distal, e serem excretados nas fezes. Embora pouco se conheça sobre a capacidade de uma bactéria se implantar no intestino de humanos, pressupõe-se que estas tenham, habilidade de aderir à membrana da mucosa, principalmente em áreas de trânsito rápido.

Metchnikoff (1903) citado por SANDINI (1979), e por muitos outros pesquisadores já preconizava os benefícios que os lactobacilos podem fazer ao trato intestinal de humanos, afirmando que o leite azedo pode deter a fermentação existente no intestino, por ação de microorganismos patogênicos e pela sua produção de ácido láctico, poderia deter o crescimento de outras bactérias prejudiciais produtoras de toxinas. Este autor fez estudos "in vitro", e demonstrou a atividade dos lactobacilos contra *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli* enteropatogênica além de bacilos e vibrio. Afirma ainda que são os ácidos orgânicos produzidos pelos lactobacilos que

inibem o crescimento dessas bactérias, especialmente os tipos patogênicos gram-negativos.

PULUSANI *et alii* (1979), comprovaram a atividade antimicrobiana das bactérias lácticas sobre *Bacilos sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sp.* e *E. coli*. Observaram que o *Streptococcus thermophilus* produz compostos antimicrobianos de baixo peso molecular muito efetivos contra vários tipos de bactérias.

JOHNSON *et alii* (1979), em estudos controlados em animais, sugeriram que os lactobacilos inibem as reações produzidas pela enterotoxina da *E. coli*, sendo capazes de impedir a colonização desta bactéria no intestino delgado.

SANDINI (1979), sugeriu que o potencial de atividades benéficas dos lactobacilos no trato intestinal de humanos tem justificado seu consumo em dietas auxiliares, com três propostas:

- a) em terapia de complicações intestinais;
- b) para melhorar ou manter a flora normal;
- c) na produção de beta-galactosidase que possibilita que indivíduos intolerantes à lactose possam consumir leite.

Os autores (MITCHELL *et alii*, 1976; GOTZ *et alii*, 1979 e FOSTER *et alii*, 1980), sugeriram que os lactobacilos podem prevenir diarreias enteropatogênicas e associadas a antibióticos.

AYEBO *et alii* (1980), fizeram estudos para avaliar o efeito do consumo regular de lactobacilos sobre a

flora fecal e a atividade das enzimas beta-galactosidase em humanos. Observaram que o número de coliformes diminuíram durante as quatro primeiras semanas do estudo, e este número permaneceu baixo, mesmo quando cessou a ingestão de lactobacilos. Observaram o mesmo efeito com os lactobacilos que aumentaram no mesmo período, permanecendo elevado nas semanas seguintes sem a ingestão dos mesmos. Disto eles concluíram que os lactobacilos podem sobreviver e multiplicar-se e se implantar no intestino.

PRAJAPATI *et alii* (1980), estudaram a implantação de lactobacilos num grupo de indivíduos alimentados com leite contendo números variáveis de células vivas. Observaram que o número de lactobacilos aumentou nas fezes dos indivíduos, e que os coliformes diminuíram significativamente, quando comparados com a população inicial. Sugeriram que os lactobacilos poderiam se implantar e modificar o meio intestinal.

Concordando, (KLAENHAMMER *et alii*, 1981 e KWONG-BUNLI, 1983), reafirmaram que grande número de lactobacilos podem fazer parte da flora intestinal humana. Algumas espécies de lactobacilos podem aumentar a resistência às desordens intestinais comuns e manter a flora intestinal, produzindo glicosidases e hidrolisando outros açúcares, para suprir a energia necessária para o crescimento de outros microorganismos importantes da flora normal.

Já (ROBINS *et alii*, 1981 e CLEMSNTS *et alii*, 1981), observaram que existem evidências de que a *Escherichia*

coli adere à parede ciliar da mucosa epitelial do intestino, podendo colonizar o intestino delgado. Sugeriram que os lactobacilos também podem aderir à mucosa, uma vez que inibem o crescimento da *E. coli* neste local.

Já (SOBEL *et alii*, 1982 e CLEMENTS *et alii*, 1983), comprovaram que os lactobacilos ingeridos com o alimento podem aderir ao epitélio do intestino e podem suportar os efeitos da atividade peristáltica e das forças gravitacionais do trânsito rápido nesta área intestinal.

CONWAY *et alii* (1987), pesquisaram a sobrevivência de bactérias láticas no suco gástrico humano e sua capacidade de aderir às células intestinais. Concluíram que os lactobacilos podem aderir às células do intestino por tempo suficiente para permitir sua colonização no trato intestinal.

HOOD e ZOTTOLA (1988), investigaram a sobrevivência do *Lactobacillus acidophilus* em pH baixo e sua capacidade de aderir à célula do intestino humano "in vitro", e observaram que este microorganismo tem habilidade de aderir ao epitélio intestinal, e que o pH baixo não afeta esta capacidade.

SHAH e JELEN (1990), investigaram a sobrevivência de bactérias láticas em condições ácidas. Concluíram que o *L. acidophilus* e o *L. bulgaricus* sobrevivem melhor que outras espécies, indicando a possibilidade destes microorganismos exercerem efeito protetor contra alterações gastroentéricas em humanos.

2.4. Aspectos profiláticos e terapêuticos do iogurte

Muitos efeitos benéficos tem sido atribuídos aos microorganismos contidos no iogurte.

A literatura é muito controvertida sobre a ação dessas bactérias no intestino, porque acreditava-se que elas não podiam sobreviver no meio duodenal devido aos sais biliares.

Por outro lado, DAVIS (1959), e outros pesquisadores citaram Metchnikoff, que em 1910 ressaltava o papel dos leites fermentados na proteção da saúde, e a contribuição para manter o equilíbrio da flora intestinal.

DONALDSON (1964c), afirmou que o iogurte tem sido usado para recompor a flora intestinal após terapia com antibióticos, e que o iogurte exerce efeito antibacteriano sobre patógenos resistentes aos antibióticos sintéticos.

GOODENOUGH (1975), demonstrou a sobrevivência de cultura do iogurte no intestino de ratos alimentados com produtos contendo culturas vivas de lactobacilos, sugerindo que estes microorganismos poderiam se implantar no intestino do homem se uma alimentação sistemática e continuada for feita com produtos de leites fermentados.

GILLILAND *et alii* (1978), investigando indivíduos alimentados com três dietas diferentes, contendo leite e culturas vivas de lactobacilos, observou que o consumo de 950ml desse leite ao dia resultou na implantação do

Lactobacillus acidophilus no trato intestinal em apenas dois dias de tratamento.

SANDINI (1979), observou que se o consumo de iogurte não aumenta o número de lactobacilos nas fezes dos indivíduos investigados, a atividade metabólica da microflora intestinal pôde ser benéficamente alterada.

Estudando a resistência de lactobacilos ao pH gástrico, ALM e PETTERSON (1980), demonstraram que eles são mais resistentes do que outras bactérias, tendo condição de se alojar no intestino, e manter o balanço da microflora.

DEETH e TAMINE (1981), enfatizaram que o iogurte tem sido usado para prevenir e tratar desordens gastrointestinais, principalmente em crianças, acompanhando a terapia com antibióticos.

KILARA (1982), verificou que a microflora do iogurte pode permanecer viável mesmo na presença de sais biliares, justificando sua passagem pelo estômago e duodeno, a sua presença no intestino, e sua ação benéfica sobre patógenos.

Concordando, (TERRE, 1981 e KWONG-BUNGI, 1983), reafirmaram que a ingestão sistemática de iogurte, permite que a flora láctica exerça ação sobre a flora intestinal, mantendo seu equilíbrio.

GOLDIN e GORBACH (1984), demonstraram que o iogurte com *L. acidophilus* pode alterar a atividade metabólica da microflora intestinal. A manutenção do efeito máximo, depende da ingestão contínua e diária deste produto.

HITCHINS *et alii* (1985), investigaram a resistência de ratos acometidos por salmonelose, e sua reação à alimentação com iogurte. Concluíram que o iogurte não previne a salmonelose, mas reduziu significativamente a perda de peso e conseqüentemente a mortalidade desses animais, e reafirmaram a importância do iogurte como protetor da flora entérica.

TOBA *et alii* (1986), estudaram as mudanças na hidrólise da lactose em iogurte elaborado com culturas lácticas e com enzima beta-galactosidase. Observaram que a enzima é mais efetiva em hidrolisar a lactose, mas que os monossacarídeos aumentam durante a fermentação e estocagem do iogurte. Esses monossacarídeos são excelentes fontes de carboidratos para as bifidobactérias da flora intestinal.

COLOMBEL *et alii* (1987), demonstraram que a terapia com antibióticos altera a flora intestinal e pode ter sérias conseqüências. O uso de iogurte contendo *Bifidobacterium longum* restaura o equilíbrio da flora e previne outras complicações.

Investigando crianças com deficiência em vitamina D, SAAL *et alii* (1985), relatam um caso clínico no qual a deficiência desta vitamina aumentou quando o leite foi substituído por iogurte. Observaram que embora o iogurte seja uma excelente fonte de proteínas, cálcio e fósforo, não apresenta quantidades adequadas de vitamina D.

No entanto OZSOYLU (1987), confronta o trabalho de SAAL *et alii* (1985), afirmando que o iogurte é uma

excelente fonte de cálcio e fósforo, que facilita a absorção da vitamina D, e seu uso é recomendado à criança com raquitismo e deficiência de vitamina D.

O uso do iogurte tem sido muito recomendado para o tratamento de indivíduos intolerantes à lactose, por ser uma excelente fonte de proteínas e por conter as enzimas bacterianas que hidrolizam a lactose.

Muitos pesquisadores como (RICHTER *et alii*, 1973; KILARA e SHAHANI, 1975 e FERREIRA, 1976), investigaram indivíduos intolerantes à lactose e observaram que a lactose foi melhor hidrolisada quando os indivíduos consumiram iogurte, sugerindo que as bactérias lácticas fornecem a lactase necessária no intestino.

Enquanto (ALM, 1982 e KOLARS *et alii*, 1984), verificaram que em adultos deficientes em lactase, a intolerância ao leite se traduz por sintomas como flatulência, borbórigmos, cólicas abdominais e diarreia. Esses sintomas podem ser prevenidos com a ingestão de iogurte, como verificou (GILLILAND e KIN, 1984).

SAVAIANO *et alii* (1984), estudaram a absorção da lactose em indivíduos lactase deficientes, através do "Breath Hydrogen Test". Demonstraram que o iogurte foi o único entre os produtos testados capaz de aumentar a digestão da lactose e melhorar sua absorção, devido à lactase bacteriana.

Investigando pacientes intolerantes à lactose portadores de osteoporose, (GALLAGHER, 1974 e SMITH e KOLARS,

1985), observaram que quando eles foram alimentados com iogurte, a absorção de cálcio aumentou, e os indivíduos não apresentaram os sintomas de intolerância.

RAO e PULUSANI (1985), enfatizaram que o iogurte pode ter importante papel na nutrição em várias situações, especialmente quando os indivíduos não toleram leite. Sugerem que a lactase microbiana continua em atividade no trato intestinal.

SMITH *et alii* (1985), fizeram estudos sobre a absorção do cálcio do iogurte e do leite por indivíduos intolerantes à lactose. Concluíram que o iogurte se constitui em melhor fonte de cálcio para esses indivíduos, pela sua tolerabilidade e por não provocar os sintomas de intolerância.

DEWIT *et alii* (1987), compararam a absorção da lactose e sua tolerância clínica após a ingestão de leite e de iogurte por indivíduos intolerantes, mostraram que a lactose foi melhor absorvida após a ingestão de iogurte, quando comparadas ao leite. Observaram que a diarreia pode ser prevenida pela substituição do leite por iogurte. Verificaram que menos hidrogênio foi produzido no intestino após a ingestão do iogurte. Enfatizaram ainda que o uso do iogurte tem sido proposto nas dietas de crianças com diarreia crônica e deficiência de lactase, porque este produto é similar ao leite.

MARTINI *et alii* (1987a), citam que indivíduos lactase deficientes digerem mais efetivamente a lactose do

iogurte do que de outros produtos à base de leite, aparentemente devido à atividade da beta-glicosidase microbiana, que é ativa no trato intestinal. Estes pesquisadores sugeriram que a capacidade tamponante do iogurte protege a enzima da ação do suco gástrico.

MARTINI *et alii* (1987b), investigaram a digestão e a tolerância à lactose de iogurte flavorizado, iogurte natural, sorvete e creme de leite. Observaram que o iogurte natural reduziu significativamente a produção de hidrogênio e sua excreção respiratória. Todos os iogurtes continham significantes quantidades de beta-galactosidase microbiana. Indivíduos lactase deficientes quando ingeriram iogurte flavorizado com morango absorveram menos lactose, quando comparados com o iogurte natural ou com o leite. Essas diferenças parecem refletir que a baixa quantidade de beta-galactosidase ativa do iogurte de morango foi a responsável pela má absorção da lactose.

POCHART *et alii* (1989), pesquisando a sobrevivência de lactobacilos em amostras de duodeno de indivíduos lactase deficientes, após 60 minutos da ingestão de iogurte, demonstraram que a quantidade e a atividade de beta-galactosidase permaneceu similar durante este período. Os resultados dos estudos comprovaram que quando o *Lactobacillus bulgaricus* e o *Streptococcus thermophilus* são ingeridos com o iogurte, grandes quantidade de células sobrevivem à passagem pelo estômago. A capacidade de sobreviver ao suco gástrico varia com o "strain" da bactéria e o pH do estômago.

Segundo ZULAICA (1989), os intolerantes a lactose tem seu problema resolvido com o uso do iogurte. Este produto serve também ao tratamento de moléstias intestinais precedidas por diarréias.

LEREBOUS *et alii* (1989), observaram que a atividade de beta-galactosidase do conteúdo intestinal aumenta após prolongada ingestão de iogurte, quando comparada com a ingestão de iogurte pasteurizado ou de lactose, em indivíduos normais. Portanto para intolerantes à lactose não se recomenda o uso de iogurte pasteurizado, uma vez que são as bactérias lácticas que produzem a enzima necessária para hidrolisar a lactose.

SAVAIANO e KORTZ (1989), após extensa revisão concluíram que muitos pesquisadores são unânimes ao enfatizar o uso do iogurte para alimentação de indivíduos intolerantes à lactose. O iogurte contém a lactose hidrolizada na forma de ácido láctico, e fornece as bactérias lácticas que podem sintetizar a lactase microbiana no intestino.

Pesquisadores como (METCHNIKOKK, 1907; SPECK, 1975 e BARNDT *et alii*, 1977) entre inúmeros outros, sugeriram que a aterosclerose pode regredir em pacientes hipercolesterolêmicos, suplementando-se a dieta com iogurte.

Concordando com estes trabalhos MAN (1977), afirmou que o ácido hidroximetilglutárico no organismo pode limitar a síntese de colesterol, porque inibe a enzima hidroximetilglutárico Coenzima A redutase. Esse ácido existe no iogurte, devido a ação das bactérias lácticas.

Segundo HEPNER *et alii* (1979), a ingestão de iogurte com lactobacilos vivos resulta na desconjugação de sais biliares e aumenta a excreção de colesterol nas fezes.

ROSSOUW *et alii* (1981), fizeram estudos com humanos, usando leite desnatado, iogurte e creme de leite, sobre o comportamento do colesterol, e das lipoproteínas plasmáticas. Concluíram que o iogurte pode diminuir o colesterol especialmente se for desnatado.

JASPERS *et alii* (1984), também estudaram o efeito do iogurte sobre o colesterol em homens adultos. Descobriram no entanto que o iogurte reduz o nível de colesterol em 10 a 12%, porém os triglicérides e as lipoproteínas de alta densidade não foram significativamente reduzidas.

DANIELSON *et alii* (1989), investigaram porcos idosos alimentados com dietas elevadas em colesterol e associadas ao consumo de iogurte. As análises demonstraram que o iogurte produzido por *Lactobacillus acidophilus* reduziu o colesterol sérico e as lipoproteínas de baixa densidade, mas não apresentou o mesmo efeito sobre os triglicérides séricos e as lipoproteínas de alta densidade.

VEER *et alii* (1989), relataram casos clínicos relacionando o câncer de mama e o consumo de iogurte e outros produtos de leite fermentados. Sugeriram que o grande consumo destes produtos podem exercer efeito protetor contra o risco de câncer de mama. Estes autores citaram muitos trabalhos enfatizando o efeito anticarcinogênico do iogurte em animais de laboratório.

HITCHINS *et alii* (1989), em revisão sobre as propriedades dos leites fermentados, reafirmaram a importância do iogurte não pasteurizado e as suas propriedades terapêuticas, para manutenção da flora intestinal, seus efeitos anticarcinogênicos em ratos, o efeito antiolesterolêmico em humanos, e o seu uso para intolerantes à lactose.

3. MATERIAL E METODOS

3.1. Material

3.1.1. Individuos

Foram investigados 23 elementos de ambos os sexos, adultos com idade entre 18 e 40 anos.

3.1.2. Iogurte e leite

Neste experimento foram utilizados iogurte natural não pasteurizados, fornecido pela Indústria de Produtos Alimentícios NESTLE, e também leite pasteurizado tipo C, "in natura", adquirido no mercado local.

3.1.3. Meios de cultivo

3.1.3.1. TPPY Eriochrome Agar

Composição do meio por litro:

. triptose.....	7g
. proteose peptona.....	7g
. extrato de levedura.....	2g
. glicose.....	10g

. lactose.....	10g
. Twen 80.....	1g
. ágar.....	15g

3.1.3.1.1. Preparo

Para preparar o meio dissolveu-se em primeiro lugar as peptonas, e o extrato de levedura, os açúcares e o Twen 80, em água destilada com aquecimento. O ágar foi adicionado após ser dissolvido por fervura separadamente, O pH do meio foi ajustado para 6,8 com solução de NaOH a 0,1N. Esterilizou-se a 121°C por 20 minutos. O Eriochrome a 0,4% foi dissolvido em água destilada estéril, e adicionado às placas de Petri no momento de usar. O meio foi preparado de acordo com métodos descritos por (BRACQUART, 1981).

3.1.3.2. Meio para contagem total (PCA)

Composição do meio por litro:

. triptona.....	5g
. extrato de levedura.....	2,5g
. dextrose.....	1g
. ágar.....	15g

3.1.3.2.1. Preparo

Preparou-se o meio rehidratando-se 23,5 gramas do composto em água destilada até completar 1 litro. Aqueceu-se até a fervura para dissolver completamente. Esterilizou-se em autoclave por 15 minutos, a 121°C. o pH final foi de $7,0 \pm 0,2$ à 25°C. Depois de pronto o meio foi conservado sob

refrigeração até o momento de usar. Preparação conforme descrito no manual de microbiologia (DIFCO, 1978).

3.1.3.3. Meio ágar de MacConkey

Composição do meio por litro:

. peptona de gelatina.....	17,0g
. mistura de peptonas.....	3,0g
. lactose.....	10,0g
. sais biliares.....	1,5g
. cloreto de sódio.....	5,0g
. ágar.....	13,5g
. vermelho neutro.....	0,03g
. cristal violeta.....	0,001g

Para rehidratar o meio suspendeu-se 50 gramas do composto em água destilada até completar 1 litro. Misturou-se uniformemente e aqueceu-se com agitação frequente até a fervura durante alguns minutos, e em seguida esterilizou-se em autoclave a 121°C por 15 minutos. O pH final do meio foi de 7,1 a 25°C. Preparação conforme descrito no manual de microbiologia (DIFCO, 1978).

3.1.4. Solvente para preparar a diluição das amostras

3.1.4.1. Peptona 1:1000

Esta solução foi preparada adicionando-se 1,0 grama de peptona por litro de água destilada. Esterilizou-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

3.1.4.2. Tryptona a 1,5%

Esta solução foi preparada dissolvendo-se 15,0 gramas de triptona e completando-se o volume com água destilada até 1 litro. Esterilizou-se a 121°C por 15 minutos.

3.2. Métodos

3.2.1. Seleção dos indivíduos

Os indivíduos que participaram do experimento foram todos voluntários.

A seleção foi feita através de um questionário onde constavam questões sobre a idade, sexo, profissão, atividade física, hábitos alimentares, alterações do trato digestivo. Observações gerais durante e após o término do experimento. Ficha 1 (apêndice).

Participaram do experimento 23 indivíduos divididos em dois grupos, designados grupos A e B, segundo o tipo de tratamento, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o tipo de tratamento.

GRUPOS	TRATAMENTO	Nº INICIAL	Nº FINAL
A	iogurte	15	12
B	iogurte e leite	15	11
TOTAL			23

O número inicial de indivíduos foi determinado com margem de segurança para prevenir possíveis desistências durante o experimento.

A idade dos indivíduos variou entre 18 e 40 anos, sendo 25 anos a média de idade, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição dos indivíduos por grupo segundo a faixa etária.

FAIXA ETARIA	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
18 - 20	03	25,0	03	27,28
21 - 25	05	41,67	05	45,45
26 - 30	02	16,67	03	27,28
31 - 35	01	8,33	-	-
36 - 40	01	8,33	-	-
TOTAL	12	100,00	11	100,00

Dos 23 indivíduos investigados, 11 elementos eram do sexo masculino e 12 do sexo feminino, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o sexo.

SEXO	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
Masculino	06	50,0	05	45,45
Feminino	06	50,0	06	54,55
TOTAL	12	100,00	11	100,00

Todos os indivíduos estavam em perfeitas condições de saúde e não fizeram uso de medicamentos durante o experimento. Apenas três elementos do grupo A e dois elementos do grupo B fizeram uso de medicamentos anteriormente ao experimento conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o uso de medicamentos anteriormente ao experimento

USO DE MEDICAMENTO	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
sim	03	25,0	02	18,8
não	09	75,0	09	81,82
TOTAL	12	100,00	12	100,00

Os medicamentos utilizados pelos indivíduos foram: relaxante muscular, medicação analgésica e laxativos homeopáticos.

Dos indivíduos participantes, apenas oito elementos apresentaram alterações gástricas anteriormente ao experimento, mas que já haviam sido tratados, como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo alterações gástricas anteriormente ao experimento

USO DE MEDICAMENTO	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
sim	05	41,67	03	23,28
não	07	58,33	08	72,72
TOTAL	12	100,00	12	100,00

A alteração gástrica apresentada pelos indivíduos dos dois grupos foi gastrite.

A dieta alimentar dos indivíduos e seus hábitos alimentares não foram controlados durante o experimento. Os indivíduos foram orientados para não ingerir nenhuma quantidade adicional de iogurte, ou qualquer produto que pudesse conter lactobacilos, durante o experimento, além daquele que lhe era fornecida.

Tabela 6 - Distribuição dos indivíduos por grupos segundo o número de refeições diárias

Nº DE REFEIÇÕES	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
2 ao dia	03	25,0	01	9,09
3 ao dia	08	66,67	07	63,63
4 ao dia	01	8,33	03	27,28
TOTAL	12	100,00	11	100,00

As refeições consideradas de acordo com o número de vezes efetuadas foram:

2 ao dia = almoço e jantar

3 ao dia = desjejum, almoço e jantar

4 ao dia = desjejum, almoço, lanche e jantar

Todos os elementos assinaram termo de compromisso, no qual constava a inocuidade do produto a ser consumido, e lhes assegurava plena liberdade na participação do experimento, ou sua desistência se não desejassem continuar. A ficha 2 (apêndice) mostra o modelo que foi utilizado.

3.2.2. Procedimento experimental

Para que se procedesse o experimento os 12 elementos do grupo A, ingeriram 400 gramas de iogurte natural industrializado, em duas tomadas ao dia, durante 45 dias

ininterruptos, e foram orientados para não ingerir leite, durante este período.

O grupo B com 11 elementos ingeriu 200 gramas de iogurte natural industrializado e 200 ml de leite tipo C "in natura", em duas tomadas ao dia, durante 45 dias ininterruptos. Foram orientados para que não consumissem qualquer produtos similar durante o período do estudo. Este grupo ingeriu leite juntamente com o iogurte, para que a lactose fosse a fonte de carbono, disponível aos lactobacilos.

3.2.3. Coleta das amostras

Os elementos de ambos os grupos receberam recipientes metálicos e espátulas de madeira, previamente esterilizados para a coleta das amostras de fezes. Todos os indivíduos foram instruídos sobre a maneira correta de se fazer a coleta.

Durante o período de estudo foram feitas oito coletas, sendo a primeira para determinação da flora microbiana inicial, seis coletas semanárias, durante o período de ingestão do iogurte, e uma coleta uma semana após a interrupção na ingestão do produto.

3.2.4. Preparo das amostras

As amostras foram diluídas em água peptonada a 1:1000. Pesou-se 10 gramas da amostra em balança analítica e diluiu-se em 90ml de água peptonada. Agitou-se com bastão de

vidro ate homogeinizar completamente, e em seguida foram filtradas.

Pipetou-se 1ml do filtrado e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 9ml de solução de triptona a 1,5%. Fez-se a diluição em série, transferindo-se 1ml da diluição anterior para o próximo tubo de ensaio, sucessivamente até a diluição desejada (GILLILAND *et alii*, 1978).

3.2.5. Contagem de coliformes

Para a contagem de coliformes foram preparadas placas de Petri, previamente esterilizadas. Pipetou-se 1ml das diluições escolhidas e transferiu-se para as placas de Petri em duplicata, em seguida verteu-se 20ml de meio Agar de MacConkey, fundido e mantido em banho maria a 50°C.

As placas foram incubadas invertidas, após solidificação a 37°C por 24 horas. A leitura das placas foi feita com lupa. Para se fazer a coloração de gram dividiu-se as placas em quatro quadrantes e foi escolhida uma colônia de um dos quadrantes. As lâminas foram examinadas ao microscópio para observação da morfologia dos microorganismos e a coloração de gram (CAMARGO, 1977).

3.2.6. Contagem total

Para contagem total utilizou-se meio "Plate Count Agar" (PCA), previamente fundido e mantido em banho maria a 50°C. Pipetou-se 1ml das diluições escolhidas para placas de Petri em duplicata, e em seguida verteu-se 20ml do

meio. As placas foram incubadas invertidas após solidificação, a 37°C por 24 horas, a leitura foi feita com lupa.

Para fazer a coloração de gram, as placas foram divididas em quatro quadrantes e escolhidas duas colônias de um dos quadrantes. As lâminas foram examinadas ao microscópio para observar a morfologia dos microorganismos e a classificação de gram (CAMARGO, 1977).

3.2.7. Contagem de lactobacilos

Para contagem de lactobacilos das amostras usou-se o meio TPY-Eriochrome Agar. Pipetou-se 1ml das diluições escolhidas para placas de Petri em duplicata. Em seguida verteu-se 15ml do meio e adicionou-se 0,15ml da solução de Eriochrome a 0,4%, agitando-se suavemente. Após solidificação as placas foram incubadas em jarras de Gaspak, utilizando-se uma pastilha de anaerobac para produzir atmosfera com teor reduzido de oxigênio, e elevado teor de gás carbônico. As placas foram incubadas invertidas por 48 horas a 42 °C, e lidas com lupa. Em seguida fez-se coloração de gram, escolhendo-se uma colônia de um dos quadrantes da placa. As lâminas foram examinadas ao microscópio para observação da morfologia dos microorganismos, e confirmação do gram para lactobacilos (BRACQUART, 1981).

3.2.8. Determinação do pH das amostras

Para determinação do pH das amostras, diluiu-se 5,0 gramas de fezes em água destilada e leu-se o pH por

imersão direta do eletrodo na amostra diluída (SANDINI *et alii*, 1972).

3.2.9. Análise estatística

A análise estatística para o estudo do comportamento do número total de microorganismos, número de coliformes e lactobacilos, e o pH das fezes, em dois grupos de adultos sadios, foi feita ao longo do período de avaliação através da análise de perfil para dois grupos experimentais (MORRISON, 1976).

Para a realização da análise estatística as três primeiras variáveis descritas acima foram consideradas sob transformação logaritmica, e a última variável na forma original.

Todos os testes estatísticos foram realizados ao nível de 5% e 1% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSAO

Os resultados das contagens de microorganismos totais, coliformes e lactobacilos, e do pH das amostras para os dois grupos experimentais durante as oito semanas de estudo encontram-se nas Tabelas 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24 do apêndice.

Os resultados da análise estatística de comparação entre os dois tratamentos para os parâmetros acima mencionados, encontram-se nas Tabelas 13, 14, 15, e 16 do apêndice.

4.1. Flora total

A análise estatística dos dados para contagem total de microorganismos, Tabela 7, mostra que os dois grupos se comportaram semelhantemente, durante o período experimental.

Tabela 7 - Resultados dos testes estatísticos para desenvolvimento da flora total (U.F.C/ml), nos dois grupos experimentais.

HIPOTESE AVALIADA	RESULTADOS DO TESTE ESTATISTICO	CONCLUSAO
Analogia entre os perfis dos dois grupos	$F=1,11 > (p > 0,05)$	Os dois grupos tiveram comportamento semelhante ao longo do período experimental
Coincidência entre os perfis dos dois grupos	$t=1,19 (p > 0,05)$	$G_a \equiv G_b$
Efeito das semanas de avaliação	$F=6,27 (p < 0,01)$	$I > (S_2 = \dots = S_6 = F)$ em relação a S_1

A contagem inicial foi significativamente superior ($p < 0,01$) em relação ao período do experimento, enquanto durante as seis semanas do tratamento o número total de microorganismos não apresentou variação estatisticamente significativa, sendo que, mesmo após uma semana sem ingestão de iogurte, a contagem total de microorganismos não aumentou significativamente em relação à sexta semana.

Isto demonstra que durante o período experimental tanto para o grupo A, com ingestão de iogurte, como para o grupo B, com ingestão de iogurte e leite, houve um decréscimo no desenvolvimento da flora microbiana intestinal.

A (Figura 1) mostra o comportamento dos dois grupos ao longo das semanas de estudo.

Figura 1 - Efeito da ingestão de iogurte natural (Grupo A) e iogurte + leite (Grupo B) sobre a flora microbiana fecal total: ($p < 0,01$).

Os resultados deste estudo mostraram-se semelhantes aos obtidos por GILLILAND (1978), quando estudou a ação de lactobacilos sobre a flora fecal de indivíduos alimentados com leite acidófilo, o qual também não observou efeito significativo sobre a contagem total de microorganismos das fezes desses indivíduos. O mesmo foi observado por PRAJAPATI *et alii* (1980), quando estudaram a implantação de lactobacilos no trato intestinal de humanos. Efeitos semelhantes foram observados por SANDINI (1979), que atribuiu este decréscimo na flora microbiana total aos ácidos orgânicos produzidos pelos lactobacilos.

4.2. Coliformes totais

Também em relação aos coliformes totais, ambos os grupos se comportaram semelhantemente durante o período experimental de oito semanas.

A contagem inicial de coliformes foi estatisticamente superior ($p < 0,01$), em relação às contagens encontradas durante o período de administração de iogurte para o grupo A e de iogurte e leite para o grupo B, conforme mostrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados dos testes estatísticos para o desenvolvimento de coliformes totais (U.F.C./ml) nos dois grupos experimentais.

HIPOTESE AVALIADA	RESULTADOS DO TESTE ESTATISTICO	CONCLUSAO
Analogia entre os perfis dos dois grupos	$F=2,48 (p>0,05)$	Os dois grupos tiveram comportamento semelhante ao longo do período experimental
Coincidência entre os perfis dos dois grupos	$t=0,82(p>0,05)$	$G_a \equiv G_b$
Efeito das semanas de avaliação	$F=16,00(p<0,01)$	$I>(S_2=...=S_6=F)$ em relação a S_1

Isto significa que a ingestão de iogurte em ambos os grupos diminuiu o desenvolvimento de coliformes no trato intestinal, e que, mesmo após uma semana sem o uso do iogurte, esse efeito ainda persistia, uma vez que a população de coliformes não diferiu estatisticamente em relação aos números da sexta semana com a ingestão do produto.

A (Figuras 2) mostra o comportamento dos dois grupos, durante o período experimental.

Figura 2 - Efeito da ingestão de iogurte natural (Grupo A) e iogurte natural + leite (Grupo B) sobre a contagem de coliformes: ($p < 0,01$).

Esses resultados foram coincidentes com os citados por SANDINI (1979) e GILLILAND (1978), que observaram decréscimo no desenvolvimento de coliformes em grupos de indivíduos alimentados com leites fermentados por *Lactobacillus acidophilus*. Efeitos semelhantes foram observados por PRAJAPATI *et alii* (1980) e AYEBO *et alii* (1980), em estudos sobre a ação dos lactobacilos sobre a flora intestinal, nos quais os coliformes diminuíram no decorrer do experimento, e estes números permaneceram baixos mesmo após a interrupção na ingestão do iogurte. A colonização de coliformes no intestino delgado pode ser inibida pela ação dos lactobacilos, como foi sugerido por METCHINIKOFF (1908); JOHNSON *et alii* (1979) e ROBBINS *et alii* (1981).

4.3. Lactobacilos totais

A análise estatística dos dados para contagem de lactobacilos, Tabela 9, mostra que os dois grupos tiveram comportamento semelhante, durante o período experimental.

Tabela 9 - Resultados dos testes estatísticos para desenvolvimento de lactobacilos, (U.F.C/ml), nos dois grupos experimentais.

HIPOTESE AVALIADA	RESULTADOS DO TESTE ESTATISTICO	CONCLUSAO
Analogia entre os perfís dos dois grupos	$F=1,89(p>0,05)$	Os dois grupos tiveram comportamento semelhante ao longo do período experimental
Coincidência entre os perfís dos dois grupos	$t=2,49(<0,05)$	$G_a = G_b$
Efeito das semanas de avaliação	$F=5,53(p<0,01)$	$S_2 > (S_1=S_2=S_3=S_4=S_5=S_6) > F$

O grupo A, alimentado com iogurte mostrou diferença significativa ($p<0,05$), em relação ao grupo B, alimentado com iogurte e leite, quando se analisa a coincidência entre os perfís dos dois grupos.

A (Figura 3) mostra o efeito das semanas de tratamento, quanto ao número de lactobacilos nas fezes.

Figura 3 - Efeito da ingestão de iogurte natural (Grupo A) e iogurte natural + leite (Grupo B) sobre o desenvolvimento de lactobacilos: ($p < 0,01$).

Verificou-se que na 2ª semana a contagem de lactobacilos foi maior que na 1ª semana de estudo, quando se iniciou a ingestão de iogurte. No decorrer do experimento durante as 3ª, 4ª, 5ª e 6ª semanas não houve alteração significativa no número de lactobacilos. Na 7ª semana quando se interrompeu o tratamento, o número de lactobacilos decresceu nas fezes dos indivíduos dos dois grupos, embora mantendo-se em números elevados em relação à sexta semana. Isto demonstra que a interrupção na ingestão do iogurte, resulta em decréscimo no desenvolvimento desses microorganismos, indicando a dificuldade de colonizar o trato intestinal com lactobacilos.

Esses resultados coincidem com os de AYEBO *et alii* (1980), que demonstraram que o número de lactobacilos aumentou nas fezes de indivíduos que receberam leite acidófilo. Os autores atribuíram estes resultados a uma possível multiplicação destes microorganismos no trato intestinal. O aumento no número de lactobacilos no intestino após a ingestão de iogurte também foi observado por GILLILAND *et alii* (1978) e por SANDINI (1979), e podem resultar na inibição e controle de outros gêneros de bactérias no intestino.

Entretanto estudos muito anteriores feitos por BECK e NECHELIS (1961) e por DONALDSON (1964), afirmam que o *Lactobacillus bulgaricus* é pouco hábil em sobreviver à barreira gástrica, mas seu consumo diário e contínuo pode resultar em mudança na flora intestinal.

A suplementação de dietas humanas com lactobacilos, além do efeito benéfico sobre a microflora intestinal altera também a atividade metabólica e enzimática de outras bactérias, conforme demonstrado por (GILLILAND e SPECK, 1977; SANDINI, 1979; SANDINI *et alii*, 1972; AYEBO *et alii*, 1980 e GOLDIN e GORBACH, 1984). A habilidade dos lactobacilos em sobreviver no meio intestinal foi atribuída por (CONWAY *et alii*, 1987; HOOD e ZOTTOLA, 1988; e TANNOCK, 1990) a uma possível aderência ao epitélio intestinal, por tempo suficiente para permitir sua colonização.

Embora exista unanimidade entre os autores que não acreditam que os lactobacilos sobrevivam por muito tempo no meio intestinal, o consumo diário e contínuo de iogurte pode resultar no aparecimento destes microorganismos nas fezes e exercer um certo controle sobre a microflora intestinal, conforme afirma HITCHINS (1989).

4.4. Análise de pH

A análise estatística dos dados para a mudança do pH das amostras, Tabela 10, mostra que os dois grupos se comportaram de maneira semelhante durante o período experimental.

Tabela 10 - Resultados dos testes estatísticos para pH das fezes nos dois grupos experimentais.

HIPÓTESE AVALIADA	RESULTADOS DO TESTE ESTATÍSTICO	CONCLUSÃO
Analogia entre os perfis dos dois grupos	$F=2,58(p>0,05)$	Os dois grupos tiveram comportamento semelhante ao longo do período experimental
Coincidência entre os perfis dos dois grupos	$t=1,31(p>0,05)$	$G_a \equiv G_b$
Efeito das semanas de avaliação	$F=37,07(p<0,01)$	$I > (S_2=F) > S_3 > (S_4=S_5=S_6=S_1)$

A análise do efeito das semanas de avaliação mostram diferença significativa ($p<0,01$), entre as semanas do estudo.

Na semana inicial sem o uso de iogurte o pH das amostras se mostrou maior do que em todas as outras.

A (Figura 4) mostra o comportamento dos dois grupos no decorrer das semanas do estudo.

Figura 4 - Efeito da ingestão de iogurte natural (Grupo A) e iogurte natural + leite (Grupo B) sobre o pH das fezes: ($p < 0,01$).

Mesmo quando a ingestão de iogurte foi interrompida o pH das fezes manteve-se mais baixo que a semana inicial, coincidindo com a presença de lactobacilos ainda no trato intestinal.

Estes resultados são similares aos obtidos por SANDINI *et alii* (1972), que observaram uma redução significativa no pH das fezes, atribuída aos produtos formados pelos lactobacilos como o ácido láctico, fórmico e acético, e também peróxido de hidrogênio, como produtos finais da fermentação.

4.5. Alterações intestinais

Inúmeros efeitos sobre o trato intestinal são atribuídos ao consumo de iogurte. A Tabela 11 mostra as alterações apresentadas pelos indivíduos durante o experimento.

Tabela 11 - Distribuição dos indivíduos de acordo com as alterações apresentadas durante o experimento.

TIPO DE ALTERAÇÃO	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
Constipação intestinal	01	8,33	-	-
Disenteria	01	8,33	-	-
Distensão abdominal	01	8,33	03	27,28

continua

Tabela 11 - conclusao

TIPO DE ALTERAÇÃO	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
Aumento da mot.	03	26,0	01	9,01
Aumento no nº de evac.	02	16,67	01	9,01
Acidez e Pirose	-	-	01	9,01
Nenhuma alteração	04	33,34	05	45,46
TOTAL	12	100,00	11	100,00

Após o término do experimento a maioria dos indivíduos referiu melhoria das condições intestinais, como é mostrado na Tabela 12.

Tabela 12 - Distribuição dos indivíduos segundo referência de melhora das condições intestinais pós tratamento.

TIPO DE REFERENCIA	GRUPO A		GRUPO B	
	Nº	F%	Nº	F%
Melhorou	10	83,33	09	81,82
Não alterou	02	16,67	01	9,09
Piorou	-	-	01	9,09
TOTAL	12	100,00	11	100,00

Esses resultados estão de acordo com os autores que enfatizam o efeito benéfico do iogurte sobre as

funções intestinais. A ação protetora do ácido láctico sobre a saúde do trato intestinal foi preconizada por Metchinikoff desde 1908 e muitas vezes enfatizada por cientistas como (DEETH e TAMINE, 1981; TERRE, 1981; KWONG, 1983 e HITCHINS *et alii*, 1989), que afirmaram que se a ingestão de iogurte for diária ocorre melhora das funções e previne muitas desordens intestinais. ALM *et alii* (1983) verificaram que o uso de iogurte na alimentação diária de pessoas idosas diminui a necessidade de laxativos, além de ser usado como preventivo de diarreia em crianças.

5. CONCLUSOES

Os resultados deste estudo demonstraram que a suplementação de dietas humanas com lactobacilos, exerce efeitos benéficos sobre a microflora intestinal, mantendo seu equilíbrio.

O uso de lactobacilos mantém estável e protetor efeito sobre a flora intestinal, enquanto pode inibir a proliferação de microorganismos patogênicos, especialmente coliformes.

O consumo de iogurte resultou em significativo aumento no número de lactobacilos nas fezes dos indivíduos, durante o período experimental.

O declínio no número de lactobacilos após cessar o consumo de iogurte, indica a pouca habilidade desta bactéria em colonizar o trato intestinal de humanos.

Os efeitos benéficos dos lactobacilos sobre a flora intestinal poderão ser prolongados, se o iogurte,

ou outro produto que os contenha, for incluído na alimentação diária.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALM, C. Effect of Fermentation on Lactose, Glucose and Galactose Content in Milk and Suitability of Fermented Milk Products for Lactose Intolerant Individuals. *Journal Dairy Science*, 65:346-353, 1982.

ALM, C.; HUMBLE, D.; RYD-KJELLEN, E.; e SETTERBERG, G. The Effect of Acidophilus Milk in the Treatment of Constipation in Hospitalized Geriatric Patients. Nutrition and the Intestinal Flora. In: *Symposium Swed Nutrition Found.* Bo.Hallgren, p.131, 1983.

ALM, L. e PETTERSON, L. Survival Rate of Lactobacilli During Digestion: an in Vitro Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33:2543, november, 1980.

- AYEBO, A.D.; ANGELO, L.A.; e SHAHANI, K.M. Effect of Ingesting *Lactobacillus acidophilus* Milk Upon Fecal Flora and Enzyme Activity in Humans. *Milchwissenschaft*, 35(12): 730-733, 1980.
- AYEBO, A.S. e SANDINI, K.M. Role of Culture Dairy Products in the Diet. *Cul. Dairy Prod. J.*, 15(4):21-9, 1980.
- BARNDT, R.; BLANKENHORN, D.H.; CRAWFORD, D.W. e BROOKS, S.H. Regression and Progression of early Femoral Atherosclerosis in Treated Hiperlipoproteinemic Patients. *Ann. Internal Med.*, 86:139, 1977.
- BECK, C. and NECHELIS, H. Beneficial Effects of Administration of *Lactobacillus acidophilus* in Diarrheal and other Intestinal Disorders. *The American Journal Gastroenterology*, 35:522-532, 1961.
- BRACQUART, P. An Agar Medium for the differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt. *Journal of Applied Bacteriology*, 51: 303-305, 1981.
- COLOMBEL, J.F.; CORTOT, A.; NEUT, C. and RANOND, C. Yogurt with *Bifidobacterium longum* reduces erytromicyn-induced Gastrointestinal effects. *The Lancet*, 2: 43, july, 1987.

- CONWAY, P.L.; GORBACH, S.L. and GOLDIN, B.R. Survival of Lactic Acid Bacteria in the Human Stomach and Adhesion to Intestinal Cells. *Journal Dairy Science*, 70: 1-12, 1987.
- CLEMENTS, M.L.; LEVINE, M.M.; BLACK, R.E.; ROBINS-BROWNE, R.M.; CISNEROS, L.A.; DRUSANO, G.L.; LANATA, C.R. and SAAH, A.J. *Lactobacillus* prophylaxis for diarrhea due to Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents Chemo.*, 20: 104-108, 1981.
- CLEMENTS, M.L.; LEVINE, M.M. RISTAINO, P.A.; DAYA, U.E. and HUGHES, T.P. Exogenous Lactobacilli Fed to Man - their Fate and Ability to Prevent Diarrheal Disease. *Prog. Ed. Nut. Sci.*, 7: 27-29, 1983.
- DACK, G.M.; PETRAN, E. Bacterial Activity in Different Levels of the Intestine. *Journal of Infections Diseases*, 54: 204-220, 1934.
- DANIELSON, A.D.; PEO, E.R.Jr.; SHAHANI, K.M.; LEWWIS, A.J.; WHALEN, P.S. and AMER, M.A. Anticholesteremic Property of *Lactobacillus acidophilus* yogurt Fed to Mature Boars. *Journal Animals Science*, 67: 966-974, 1989.
- DAVIS, G.H.G. Lactobacilli of the Human Mouth. *Journal Applied Bacteriology*, 22 (3): 350-359, 1959.

DAVIS, G.H.G. The Classification of Lactobacilli from the Human Mouth. *J. Gen. Microbiol.*, 13: 481-493, 1955.

DEETH, H.C. and TAMINE, A.Y. Yogurt: Nutritive and Therapeutic Aspects. *Journal of Food Protection*, 44 (1): 78-89, january, 1981.

DEWIT, O.; BOUDRA, A.G.; TOUHANI, M. and DESJEUX, J.F. Breat Hidrogen Test and Stools Characteristics after Ingestion of Milk and Yogurt in Malnourishes Children with Diarrhea and Lactase Deficiency. *Journal Tropical Pediatrics*, 33: 177-180, 1987.

DONALDSON, R.M. Normal Bacterial Populations of the Intestine and their Relation to Intestinal Function. *The New England Journal of Medicine*, 270 (18): 938-944, april, 1964a.

_____. Normal Population of the Intestine and their Relations to Intestinal Function. *The New England Journal of Medicine*, 270 (19): 994-1001, may, 1964b.

_____. Normal Bacterial Populations of the Intestine and their Relation to Intestinal Function. *The New England Journal of Medicine*, 270 (20): 1050-1056, june, 1964c.

- DRASAR, B.S.; SHINER, M.R. and MACLEOD, G.M. Studies on the Intestinal Flora I - The Bacterial Flora of the Gastrointestinal Tract in Healthy and achlorhydric persons. *Gastroenterology*, 56 (1): 71-79, 1969.
- DRIESSEN, F.M.; KINGMA, F. and STADHOUDERS, J. Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, 36: 135-145, 1982.
- EVANS, D.G.; EVANS, D.J.; TJOA, W.S. and DUPONT, H.L. Detection and Characterization of Colonization Factor Enterotoxigenic *Escherichia coli* isolat from adults with diarrhea. *Infect Immun.*, 19: 727-737, 1978.
- FERREIRA, C.L.L.F. Lactose Intolerance: the Problem and Solutions. *Rev. Lat. Cândido Tostes*, 10-13, julho/agosto, 1976.
- FOSTER, T.L.; WINANS, L. and CARSKI, T.R. Evaluation of lactobacillus preparations of enterotoxigenic *Escherichia coli* - induced rabbit ileal loop reations. *American Journal Gastroenterology*, 73: 238-243, 1980.
- GALLACHER, Ch.R; LOLLESON, A.L. and CALDWELL, J.H. Lactose Intolerance and dairy products. *Journal of the American Dietetic Association*, 65: 418-419, october, 1974.

- GIANELLA, R.A.; BROTTMAN, S.A. and ZAMCHEK, N. Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man: studies in vivo and in vitro. *Gut*, 13: 251-256, 1972.
- GILLILAND, E.S. and KIN, H.S. Effect of Viable Starter Culture Bacteria in yogurt on Lactose Utilization in Humans. *Journal Dairy Science*, 67: 1-6, 1984.
- GILLILAND, E.S. and SPECK, M.L. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* Toward Intestinal and Foodborne Pathogens in Associative Cultures. *Journal of Food Protection*, 40 (12): 820-823, december, 1977.
- GILLILAND, S.E.; SPECK, M.L. and MORGAN, C.G. Detection of *Lactobacillus acidophilus* in feces of humans, pigs and chickens. *Applied Microbiology*, 30 (4): 541-545, october, 1975.
- GILLILAND, S.E.; SPECK, M.L.; NAUYORK, G.F. and GIESBRECHT, F.G. Influence of Consuming nonfermented Milk containning *Lactobacillus acidophilus* on Fecal Flora of Health males. *Journal Dairy Science*, 61: 10, 1978.
- GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L. The effect of milk and lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39: 756-761, 1984.

- GOODENOUGH, E.R. and KLEIN, D.R. Influence of Viable yogurt Microflora on digestion of Lactose by the Rat. *Journal of Dairy Science*, 59 (4): 601-605, 1975.
- GORBACH, S.L.; PLAUT, A.G.; NAHAS, L.; WEINSTEIN, R. and LEVITAN, R. Studies of Intestinal Microflora. *Gastroenterology*, 53 (6): 856-867, 1967.
- GOTS, U.; ROMANKIEWICZ, J.A.; MOSS, J. and MURRAY, H.W. Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a Lactobacillus preparations. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 36: 754-757, 1979.
- GRAY, A.J.D. and SHINER, M. Influence of gastric pH on jejunal flora. *Gastroenterology*, 56 (1): 574-581, 1963.
- GUNTER, S. and RUEC, L. Studies of Intestinal Microflora. *Gastroenterology*, 53 (6): 856-867, 1967.
- HAENEL, H. Some Rules in the Ecology of the Intestinal Microflora of Man. *Journal Applied Bacteriology*, 24 (3): 242-251, 1961.
- HEPNER, G.; FRIED, R.; FUSETTI, L. and MORIN, R. Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 32: 19-24, 1979.

HITCHINS, D.A. and MACDONOUGH, F.E. Profilatic and Therapeutic aspects of Fermented Milk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 675-684, 1989.

HITCHINS, A.D.; WELLS, P.; MACDONOUGH, F.E. and WONG, N.P. Amelioration of the adverse effect of a gastrointestinal enteritidis on wean ling rats by a yogurte diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 41: 92-100, january, 1985.

HOOD, S.K. and ZOTTOLA, E.A. Effect of Low pH on the Ability of *Lactobacillus acidophilus* to Survive and Adhere to Human Intestinal Cells. *Journal of Food Science*, 53 (5): 1514-1516, 1988.

JASPERS, D.A.; MASSEY, L.K. and LUEDECKE, L.O. Effect of consuming yogurts Prepared with tree culture strains on human serun lipoproteins. *Journal of Food Science*, 49: 1178-1181, 1984.

JOHNSON, D.E. and CALIA, F.M. The effect of Lactinex on rabbit ileal loop reaction induced by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.*, 2: 207-210, 1979.

- KALSER, M.H.; COHEN, R.; ARTEAGA, I.; YAWN, E.; MAYORAL, L.;
HOFFERT, W.R. and FRAZIER, D. Normal viral and bacterial
flora of the human small and large intestine. *The New
England Journal of Medicine*, 274 (9): 500-505, 1966.
- KAO, C.T. and FRAZIER, W.C. Effect of latic bacteria on
growth of *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology*,
14: 251-255, 1966.
- KILARA, A. The effect gastric digestion in vitro on survival
the some lactobacilli. *Melchwissenschaft*, 37 (3): 129-132,
1982.
- KILARA, A. and SHAHANI, K.M. Lactase Activity of Cultured
and Acidified Dairy Products. *Journal of Dairy Science*,
59 (12): 2031-2035, 1975.
- KLAENHAMMER, R.R. and KLEEMAN, E.G. Growth characteristics,
bile sensitivity, and freeze damage in colonial variants
of *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Enviromental
Microbiology*, 41 (6): 1461-1467, 1981.
- KOLARS, J.C.; LEVITT, M.D.; AOUI, M. and SAVAIANO, D.A.
Yogurt - A antodigesting source of lactose. *New England
J. Med.*, 310: 1-3, 1984.

KWOND-BUNLI and KWONG-YU-CHAN. Production and Properties of alfa glicosidase from *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Enviromental Microbiology*, 1380-1387, december, 1983.

LEREBOUS, E.; NDAN, D.C.N.; LAVOINE, A.; HELLOT, M.F.; ANTOINE, J.M. and COLIN, R. Yogurt and fermented - then-pasteurized milk: effects of short-term and long-term ingestion on lactose absorption and mucosal lactase activity in lactose deficient subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 823-827, 1989.

MAN, G.V. A factor in Yogurt whitch lowers cholesterolemia in man. *Atherosclerosis*, 26: 335, 1977.

MARTINI, M.C.; BOLLWEG, G.L.; LEVITT, M.D. and SAVAIANO, D.A. Lactose Digestion by Yogurt beta-galactosidase cell Integrity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 45: 432-436, 1987a.

MARTINI, M.C.; SHIMTH, D.E. and SAVAIANO, D.A. Lactose digestion from Flavored and frozen yogurt, ice milk, and ice cream Lactase Deficient persons. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 46: 636-640, 1987b.

METCHINIKOFF, E. *The Nature of Man*. Studies in optimistic philosophy. The English translation edited by P. Chalmers Mitchell XVI, G. Putman's Sons New York and London, Chapter V, 1903.

_____. *The Prolongation of Life*. Mitchell, P.C. Translation. London: Heinemann, 1907.

MITCHEL, I.; DE, G. and KENWORTHY, R. Investigations on a metabolic from *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. *Journal Applied Bacteriology*, 41: 163-174, 1976.

MORRISON, O.F. *Multivariate Statistical Methods*. 2.ed., McGraw-Hill Kogakusha, Ltd, Tokyo, 1976. 415p.

OZSOYLU, M.D. Yogurt and Clinical Richets: Clinical Correspondence. *Clinical Pediatrics*, 365-374, July, 1987.

POCHART, Ph.; DEWIT, C.; DESJEUX, J.F. and BOURLIOUX, P. Viable starter culture beta-galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase deficient humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 828-831, 1989.

POZO-OLANO, J.D.; WANAN, J.H.; GOMEZ, R.G. and CAVAZOS, M.G.
Effect of a lactobacilli preparations on traveler's
diarrhea. *Gastroenterology*, 74: 829-830, 1978.

PULUSANI, S.R. and RAO, D.R. Stimulation by formate of
antimicrobial activity of *Lactobacillus bulgaricus* in
Milk. *Journal of Food Science*, 49: 652-653, 1984.

PULUSANI, S.R.; RAO, D.R. and SUNKI, G.R. Antimicrobial
Activity of Lactic Cultures: Partial Purification and
characterization of Antimicrobial compounds produced by
Streptococcus thermophilus. *Journal of Food Science*, 44
(2): 575-578, 1979.

PRAJAPATI, J.B.; SHAN, R.K. and DAVE, J.M. Nutritional and
Therapeutic Benefits of a Blended-Spray Dried acidophilus
preparation. *Cult. Dairy Products Journal*, 16-21, may,
1980.

RAO, D.R.; PULUSANI, S.R. and CHAWAN, C.B. Role of fermented
milk products in Milk Intolerance and other Clinical
Conditions. *Advances in Nutritional Research*, 7: 203-209,
1985.

RASIC, J.L. and KURMAN, J.A. *Yogurt ; Scientific grounds,
techonology manufature and preparation*. Dinamark,
Technical Dairy Publishing House, 1978.

- RICHTER, R.L.; REINECCIUS, G.A. and MCKAY, L.L. Acid Production by *Streptococcus lactis* in low lactose skin milk. *Journal of Food Science*, 38: 796-798, 1973.
- ROBINS-BROWNE, R.M. and LEVINE, M.N. The fate of ingested lactobacilli in proximal small intestine. *Ann. Journal Nutrition*, 34: 514-519, 1981.
- ROSSOUW, J.E.; BURGUER, E.M.; VANDER, U.P. and FERREIRA, J.J. The effect of skin milk, and full crean milk on human serun lipids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34: 351-356, march, 1981.
- SAAL, H.M.; RATZAN, S.K.; CAREY, D.E. Contributory factor in development of Nutritional Richets. *Clinical Pediatrics*, 24 (8): 452-454, august, 1985.
- SANDINI, W.E. Roles of Lactobacillus in the intestinal tract. *Journal Food Protection*, 42 (3): 259-262, march, 1979.
- SANDINI, W.E.; MURALIDHARA, K.S.; ELLIKER, P.P. and ENGLAND, D.C. Lactic Acid bacteria in Food and Health: A review with especial reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *Journal Milk Food Technol.*, 35 (12): 691-702, 1972.

SAVAIANO, D.A.; ABOUELANOUAR, A.; SMITH, D.E. and LEVIT, M.D.

Lactose Malabsorption from yogurt pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultures milk in lactase deficient individuals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40: 1219-1223, december, 1984.

SAVAIANO, D.A.; KORTZ, C. Recent Advances in the Management of Lactose Intolerance. *Biol. Asoc. Med. Porto Rico*, 188-192, mayo, 1989.

SHAH, N. and JELEN, P. Survival of Lactic Acid Bacteria and their Lactases under Acid Conditions. *Journal of Food Science*, 55 (2): 506-509, 1990.

SMITH, T.M.; KOLARS, J.C.; SAVAIANO, D.A. and LEVIT, M.D. Absorption of calcium from milk and yogurt. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42: 1197-1200, december, 1985.

SOBEL, J.D.; MYERS, P.; LEVISON, M.E. and KAYE, D. Comparison of bacterial and fungal adherence to vaginal exfoliated epithelial cells and human vaginal epithelial tissue culture cells. *Infect Immun.*, 35: 697-701, 1982.

SPECK, M.L. Interaction among Lactobacilli and Man. *Journal of Dairy Science*, 59 (2): 338-343, 1975.

SUZUKI, P.K. The lactobacillus group and its influence on human nutrition. *Rev. Lat. Candido Tostes*, 19-23, jan./fev., 1975.

TAMINE, A.Y. and DEETH, H.C. Yogurt technology and biochemistry. *Journal Food Protection*, 43 (12): 938-977, 1980.

TANNOCK, G.W. The Microecology of Lactobacilli Inhabiting the Gastrointestinal Tract. *Advances in Microbial Ecology*, 11: 147-171, 1990.

TERRE, S. Propriétés technologiques nutritionnelles et physiologiques de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. *Technique Laitière e Marketing*, 1008: 26-36, 1981.

THOMASON, H.; BUEKE, U. and GRACEY, M. Impaired gastric function in experimental malnutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34: 1278-1280, 1981.

TOBA, T.; ARIHARA, K. and ADACHI, S. Quantitative changes in oligosacharides during fermentation and storage of yogurt inoculated simultaneously with starter culture and beta-galactosidase, preparation. *Journal Dairy Science*, 69: 1241-1245, 1986.

TRAMER, J. Inhibitory effect of *Lactobacillus acidophilus*.
Nature, 211: 204-205, 1966.

VEER, P.U.; DEKKER, J.M.; LAAMERS, J.M.J.; KOK, F.J.;
SCHOUTER, E.G.; BRANTS, H.A.M.; STURMANS, F. and HERMUS,
R.J.J. Consumption of fermented milk products and breast
cancer. A case control study in the Netherlands. *Cancer
Research*, 49: 4020-4023, july, 1989.

VINCENT, J.C.; VEOMETT, R.C. and RILEY, R.F. Antimicrobial
activity associated with *Lactobacillus acidophilus*.
Journal Bacteriology, 78: 477-484, 1959.

ZULAICA, E.A. de. La Intolerância à Lactosa y el yogurt.
Rev. Esp. Ap. Digest., 75 (2): 167-168, 1989.

Bibliografia recomendada

ATTACE, R.; WHALEN, P.J.; SHAHANI, K.M. and AMER, M.A.
Inhibition of Growth of *Staphilococcus aureus* during
Production of acidophilus yogurte. *Journal of Food
Protection*, 50 (3): 224-228, march, 1987.

CAMARGO, R. *Microbiologia de Alimentos*. Curso de Pós-Gra-
duação. Piracicaba, USP, ESALQ, 1977. 45p.

- GONZALES, F.C. y FANTUZZI, L. Médios de Cultivo para Bactérias Lácticas. *La Alimentación Latinoamericana*, 28-32, 1977.
- GERALDINI, A.M.; DELAZARI, I.; LEITAO, M.F.F.; OLIVEIRA, C.M.M. e UBOLDI-EIROA, M.N. Caracterização de Bactérias Lácticas em Alimentos. I Avaliação de meios sólidos para Contagens de Culturas Puras. *Biol. ITAL*, 16 (1): 53-64, jan./mar., 1979.
- HUTKINS, R.W. and MORRIS, H.A. Carbohydrate Metabolism by *Streptococcus thermophilus*: A Review. *Journal of Food Protection*, 50 (10): 876-884, october, 1987.
- LEDESMA, C.; PESCE de RUIZ HOLGADO, A.A. y OLIVER, G. Estudios nutricionales em Lactobacilos heterofermentativos. *Rev. Lat. Am. Microbiol.*, 19: 75-77, 1977.
- _____. Estudios nutricionales en Lactobacilos homofermentativos. *Rev. Lat. Am. Microbiol.*, 19: 51-57, 1977.
- MAN, J.C.de.; ROGOSA, M. and SHARPE, E.M. A medium for the Cultivation of lactobacilli. *J. Applied Bact.*, 23 (1): 130-135, 1960.
- MANUAL DE BACTERIOLOGIA - Recopilación de Tecnicas - DIFCO, 1978. 395p.

ROGOSA, M. Gran Positive asporogenous rod-shaped bacteria Lactobacillaceae. In: Buchanan R.E. Gibbons N.E., Eds. *Bergeys Manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Baltimore Williams & Wilkins, 576-593, 1974.

ROGOSA, M.; WISEMAN, R.F.; MITCHELL, J.A. and DIRAEY, M.N. Species differentiation of oral lactobacilli from man including description of *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus cellobiosus*. *Journal Bacteriology*, 65: 681-689, 1953.

ROISSART, H.B.de. Que Sont Les Bacterias Lactiques? *La Technique Laitiere*, 979: 41-47, 1983.

SAVOY de GIORGI.; FONT de VALDEZ, G.M.; PESCE de RUIZ HOLGADO, A.A. y OLIVER, G. Proeba de Fermentation de Bacterias Lacticas: Relacion entre resultados y marca del extrato de levedura del medio. *La Alimentation Latinoamericana*, 76-80, 1977.

A P P E N D I C E

Tabela 13 - Médias e desvios-padrão da contagem total, nos dois grupos experimentais.

SEMANA	GRUPO A		GRUPO B	
	IOGURTE		IOGURTE + LEITE	
INICIO	9,723 ^(a) $\pm$ 0,147		9,745 ^(a) $\pm$ 0,130	
1 ^a	9,650	$\pm$ 0,111	9,690	$\pm$ 0,081
2 ^a	9,555	$\pm$ 0,151	9,496	$\pm$ 0,128
3 ^a	9,658	$\pm$ 0,177	9,533	$\pm$ 0,091
4 ^a	9,614	$\pm$ 0,124	9,605	$\pm$ 0,106
5 ^a	9,632	$\pm$ 0,152	9,610	$\pm$ 0,158
6 ^a	9,596	$\pm$ 0,102	9,524	$\pm$ 0,114
FINAL	9,687	$\pm$ 0,123	9,654	$\pm$ 0,157

(a) média de observação sob a transformação logaritmica.

Tabela 14 - Médias e desvios-padrão do número de coliformes, nos dois grupos experimentais.

SEMANA	GRUPO A		GRUPO B	
	IOGURTE		IOGURTE + LEITE	
INICIO	9,670 ^(a) $\pm$ 0,127		9,736 ^(a) $\pm$ 0,089	
1 ^a	9,514	$\pm$ 0,145	9,617	$\pm$ 0,170
2 ^a	9,431	$\pm$ 0,136	9,577	$\pm$ 0,126
3 ^a	9,515	$\pm$ 0,140	9,503	$\pm$ 0,149
4 ^a	9,501	$\pm$ 0,098	9,541	$\pm$ 0,161
5 ^a	9,466	$\pm$ 0,100	9,429	$\pm$ 0,163
6 ^a	9,504	$\pm$ 0,092	9,426	$\pm$ 0,094
FINAL	9,606 $\pm$ 0,098		9,569 $\pm$ 0,152	

(a) média de observação sob a transformação logaritmica.

Tabela 15 - Médias e desvios-padrão do número de lactobacilos, nos dois grupos experimentais.

SEMANA	GRUPO A		GRUPO B	
	IOGURTE		IOGURTE + LEITE	
INICIO	-	-	-	-
1ª	8,214 ^(a)	$\pm 0,316$	7,480 ^(a)	$\pm 0,280$
2ª	8,315	$\pm 0,210$	8,185	$\pm 0,290$
3ª	8,176	$\pm 0,284$	8,130	$\pm 0,299$
4ª	8,000	$\pm 0,239$	8,026	$\pm 0,299$
5ª	8,112	$\pm 0,287$	7,941	$\pm 0,249$
6ª	8,071	$\pm 0,185$	7,899	$\pm 0,284$
FINAL	7,778	$\pm 0,242$	7,777	$\pm 0,272$

(a) média de observação sob a transformação logaritmica.

Tabela 16 - Médias e desvios-padrão do pH das fezes, nos dois grupos experimentais.

SEMANA	GRUPO A		GRUPO B	
	IOGURTE		IOGURTE + LEITE	
INICIO	7,142	$\pm 0,138$	7,118	$\pm 0,140$
1ª	6,825	$\pm 0,062$	6,864	$\pm 0,080$
2ª	6,750	$\pm 0,131$	6,718	$\pm 0,117$
3ª	6,708	$\pm 0,090$	6,664	$\pm 0,103$
4ª	6,667	$\pm 0,049$	6,554	$\pm 0,137$
5ª	6,808	$\pm 0,079$	6,636	$\pm 0,102$
6ª	6,667	$\pm 0,065$	6,636	$\pm 0,103$
FINAL	6,808	$\pm 0,131$	6,854	$\pm 0,121$

Tabela 17 - Grupo A - Contagem total - PCA

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	38x10 ⁸	34x10 ⁸	43x10 ⁸	36x10 ⁸	60x10 ⁸	42x10 ⁸	41x10 ⁸	39x10 ⁸
02	52x10 ⁸	49x10 ⁸	31x10 ⁸	50x10 ⁸	47x10 ⁸	63x10 ⁸	47x10 ⁸	41x10 ⁸
03	30x10 ⁸	36x10 ⁸	29x10 ⁸	32x10 ⁸	33x10 ⁸	30x10 ⁸	26x10 ⁸	31x10 ⁸
04	56x10 ⁸	53x10 ⁸	61x10 ⁸	43x10 ⁸	49x10 ⁸	66x10 ⁸	51x10 ⁸	72x10 ⁸
05	63x10 ⁸	49x10 ⁸	23x10 ⁸	70x10 ⁸	54x10 ⁸	34x10 ⁸	36x10 ⁸	39x10 ⁸
06	88x10 ⁸	39x10 ⁸	40x10 ⁸	61x10 ⁸	27x10 ⁸	48x10 ⁸	51x10 ⁸	57x10 ⁸
07	30x10 ⁸	35x10 ⁸	26x10 ⁸	36x10 ⁸	53x10 ⁸	41x10 ⁸	32x10 ⁸	61x10 ⁸
10	55x10 ⁸	31x10 ⁸	27x10 ⁸	70x10 ⁸	40x10 ⁸	30x10 ⁸	54x10 ⁸	61x10 ⁸
12	57x10 ⁸	67x10 ⁸	70x10 ⁸	88x10 ⁸	47x10 ⁸	50x10 ⁸	39x10 ⁸	59x10 ⁸
13	70x10 ⁸	41x10 ⁸	30x10 ⁸	31x10 ⁸	26x10 ⁸	81x10 ⁸	44x10 ⁸	36x10 ⁸
14	76x10 ⁸	56x10 ⁸	46x10 ⁸	49x10 ⁸	55x10 ⁸	30x10 ⁸	29x10 ⁸	41x10 ⁸
15	51x10 ⁸	63x10 ⁸	31x10 ⁸	22x10 ⁸	45x10 ⁸	30x10 ⁸	35x10 ⁸	68x10 ⁸

Tabela 18 - Grupo A - Contagem total de coliformes em
MacConkey Agar

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	34x10 ⁸	30x10 ⁸	29x10 ⁸	32x10 ⁸	30x10 ⁸	26x10 ⁸	31x10 ⁸	33x10 ⁸
02	40x10 ⁸	31x10 ⁸	33x10 ⁸	30x10 ⁸	31x10 ⁸	30x10 ⁸	36x10 ⁸	35x10 ⁸
03	36x10 ⁸	30x10 ⁸	29x10 ⁸	31x10 ⁸	26x10 ⁸	30x10 ⁸	28x10 ⁸	36x10 ⁸
04	41x10 ⁸	53x10 ⁸	22x10 ⁸	33x10 ⁸	30x10 ⁸	31x10 ⁸	35x10 ⁸	30x10 ⁸
05	40x10 ⁸	21x10 ⁸	26x10 ⁸	43x10 ⁸	41x10 ⁸	32x10 ⁸	35x10 ⁸	44x10 ⁸
06	45x10 ⁸	22x10 ⁸	24x10 ⁸	30x10 ⁸	41x10 ⁸	30x10 ⁸	44x10 ⁸	69x10 ⁸
07	30x10 ⁸	35x10 ⁸	12x10 ⁸	59x10 ⁸	43x10 ⁸	33x10 ⁸	30x10 ⁸	44x10 ⁸
10	53x10 ⁸	30x10 ⁸	28x10 ⁸	30x10 ⁸	27x10 ⁸	24x10 ⁸	30x10 ⁸	45x10 ⁸
12	71x10 ⁸	45x10 ⁸	40x10 ⁸	29x10 ⁸	30x10 ⁸	29x10 ⁸	32x10 ⁸	44x10 ⁸
13	63x10 ⁸	33x10 ⁸	29x10 ⁸	30x10 ⁸	43x10 ⁸	46x10 ⁸	19x10 ⁸	31x10 ⁸
14	70x10 ⁸	61x10 ⁸	40x10 ⁸	49x10 ⁸	26x10 ⁸	31x10 ⁸	41x10 ⁸	45x10 ⁸
15	61x10 ⁸	23x10 ⁸	25x10 ⁸	16x10 ⁸	22x10 ⁸	17x10 ⁸	30x10 ⁸	41x10 ⁸

Tabela 19 - Grupo A - Contagem de Lactobacilos em TPPY
Eriocrhome Agar

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	-	26x10 ⁷	25x10 ⁷	22x10 ⁷	20x10 ⁷	19x10 ⁷	6x10 ⁷	3x10 ⁷
02	-	28x10 ⁷	21x10 ⁷	25x10 ⁷	9x10 ⁷	8x10 ⁷	6x10 ⁷	3x10 ⁷
03	-	15x10 ⁷	20x10 ⁷	11x10 ⁷	31x10 ⁷	17x10 ⁷	13x10 ⁷	13x10 ⁷
04	-	9x10 ⁷	13x10 ⁷	3x10 ⁷	6x10 ⁷	8x10 ⁷	16x10 ⁷	5x10 ⁷
05	-	20x10 ⁷	31x10 ⁷	25x10 ⁷	3x10 ⁷	13x10 ⁷	18x10 ⁷	7x10 ⁷
06	-	42x10 ⁷	31x10 ⁷	35x10 ⁷	14x10 ⁷	3x10 ⁷	23x10 ⁷	6x10 ⁷
07	-	26x10 ⁷	18x10 ⁷	20x10 ⁷	3x10 ⁷	11x10 ⁷	16x10 ⁷	11x10 ⁷
10	-	46x10 ⁷	8x10 ⁷	17x10 ⁷	9x10 ⁷	19x10 ⁷	13x10 ⁷	9x10 ⁷
12	-	6x10 ⁷	12x10 ⁷	8x10 ⁷	7x10 ⁷	23x10 ⁷	9x10 ⁷	2x10 ⁷
13	-	7x10 ⁷	28x10 ⁷	18x10 ⁷	26x10 ⁷	43x10 ⁷	14x10 ⁷	4x10 ⁷
14	-	15x10 ⁷	47x10 ⁷	11x10 ⁷	9x10 ⁷	11x10 ⁷	8x10 ⁷	6x10 ⁷
15	-	6x10 ⁷	20x10 ⁷	15x10 ⁷	16x10 ⁷	12x10 ⁷	11x10 ⁷	6x10 ⁷

Tabela 20 - Grupo A - Ph das amostras.

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	7,0	6,8	6,7	6,8	6,8	6,7	6,7	6,8
02	7,2	6,8	6,6	6,6	6,7	6,8	6,8	7,1
03	7,1	6,8	6,7	6,8	6,6	6,6	6,7	6,9
04	7,3	6,9	7,1	6,8	6,7	6,6	6,7	6,7
05	7,1	6,9	6,7	6,7	6,6	6,8	6,7	6,7
06	7,3	6,8	6,6	6,6	6,8	6,6	6,7	6,7
07	7,3	6,9	6,8	6,8	6,7	6,6	6,7	6,7
10	7,3	6,8	6,8	6,6	6,6	6,7	6,6	6,7
12	7,1	6,8	6,8	6,7	6,6	6,6	6,6	6,9
13	7,1	6,7	6,7	6,6	6,6	6,7	6,6	6,9
14	6,9	6,8	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6	6,7
15	7,0	6,9	6,8	6,8	6,7	6,6	6,6	6,9

Tabela 21 - Grupo B - Contagem total - PCA - "Plate Count
Agar

NO DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1 ^a SEM.	2 ^a SEM.	3 ^a SEM.	4 ^a SEM.	5 ^a SEM.	6 ^a SEM.	FINAL
01	70x10 ⁸	43x10 ⁸	30x10 ⁸	53x10 ⁸	30x10 ⁸	47x10 ⁸	31x10 ⁸	36x10 ⁸
02	30x10 ⁸	62x10 ⁸	22x10 ⁸	33x10 ⁸	43x10 ⁸	25x10 ⁸	36x10 ⁸	20x10 ⁸
04	46x10 ⁸	56x10 ⁸	30x10 ⁸	35x10 ⁸	49x10 ⁸	43x10 ⁸	35x10 ⁸	40x10 ⁸
05	69x10 ⁸	42x10 ⁸	21x10 ⁸	29x10 ⁸	26x10 ⁸	65x10 ⁸	23x10 ⁸	80x10 ⁸
07	71x10 ⁸	40x10 ⁸	30x10 ⁸	33x10 ⁸	56x10 ⁸	59x10 ⁸	61x10 ⁸	70x10 ⁸
08	60x10 ⁸	50x10 ⁸	43x10 ⁸	44x10 ⁸	55x10 ⁸	67x10 ⁸	30x10 ⁸	44x10 ⁸
11	59x10 ⁸	53x10 ⁸	36x10 ⁸	26x10 ⁸	42x10 ⁸	40x10 ⁸	41x10 ⁸	55x10 ⁸
12	69x10 ⁸	51x10 ⁸	33x10 ⁸	30x10 ⁸	41x10 ⁸	43x10 ⁸	32x10 ⁸	46x10 ⁸
13	35x10 ⁸	49x10 ⁸	60x10 ⁸	40x10 ⁸	30x10 ⁸	26x10 ⁸	24x10 ⁸	41x10 ⁸
14	70x10 ⁸	66x10 ⁸	29x10 ⁸	30x10 ⁸	43x10 ⁸	25x10 ⁸	36x10 ⁸	49x10 ⁸
15	55x10 ⁸	36x10 ⁸	26x10 ⁸	30x10 ⁸	40x10 ⁸	35x10 ⁸	31x10 ⁸	43x10 ⁸

Tabela 22 - Grupo B - Contagem de coliformes em MacConkey
Agar

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	51x10 ⁸	30x10 ⁸	43x10 ⁸	30x10 ⁸	56x10 ⁸	23x10 ⁸	21x10 ⁸	19x10 ⁸
02	41x10 ⁸	40x10 ⁸	51x10 ⁸	20x10 ⁸	31x10 ⁸	19x10 ⁸	23x10 ⁸	26x10 ⁸
04	60x10 ⁸	55x10 ⁸	43x10 ⁸	48x10 ⁸	30x10 ⁸	17x10 ⁸	26x10 ⁸	54x10 ⁸
05	63x10 ⁸	20x10 ⁸	27x10 ⁸	24x10 ⁸	16x10 ⁸	31x10 ⁸	21x10 ⁸	39x10 ⁸
07	42x10 ⁸	61x10 ⁸	30x10 ⁸	71x10 ⁸	40x10 ⁸	39x10 ⁸	31x10 ⁸	41x10 ⁸
08	52x10 ⁸	43x10 ⁸	40x10 ⁸	35x10 ⁸	20x10 ⁸	23x10 ⁸	21x10 ⁸	31x10 ⁸
11	60x10 ⁸	54x10 ⁸	31x10 ⁸	34x10 ⁸	36x10 ⁸	49x10 ⁸	39x10 ⁸	55x10 ⁸
12	64x10 ⁸	53x10 ⁸	45x10 ⁸	29x10 ⁸	41x10 ⁸	25x10 ⁸	31x10 ⁸	39x10 ⁸
13	70x10 ⁸	49x10 ⁸	36x10 ⁸	27x10 ⁸	43x10 ⁸	61x10 ⁸	36x10 ⁸	71x10 ⁸
14	67x10 ⁸	57x10 ⁸	50x10 ⁸	29x10 ⁸	44x10 ⁸	35x10 ⁸	36x10 ⁸	41x10 ⁸
15	40x10 ⁸	22x10 ⁸	20x10 ⁸	30x10 ⁸	42x10 ⁸	19x10 ⁸	23x10 ⁸	31x10 ⁸

Tabela 23 - Grupo B - Contagem de Lactobacilos em TPPY
Eriocrhome Agar

NO DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1 ^a SEM.	2 ^a SEM.	3 ^a SEM.	4 ^a SEM.	5 ^a SEM.	6 ^a SEM.	FINAL
01	-	6x10 ⁷	24x10 ⁷	19x10 ⁷	4x10 ⁷	13x10 ⁷	6x10 ⁷	5x10 ⁷
02	-	8x10 ⁷	18x10 ⁷	8x10 ⁷	7x10 ⁷	8x10 ⁷	13x10 ⁷	18x10 ⁷
04	-	11x10 ⁷	29x10 ⁷	7x10 ⁷	11x10 ⁷	12x10 ⁷	18x10 ⁷	6x10 ⁷
05	-	3x10 ⁷	6x10 ⁷	3x10 ⁷	5x10 ⁷	21x10 ⁷	3x10 ⁷	7x10 ⁷
07	-	11x10 ⁷	8x10 ⁷	19x10 ⁷	6x10 ⁷	11x10 ⁷	12x10 ⁷	3x10 ⁷
08	-	5x10 ⁷	7x10 ⁷	12x10 ⁷	6x10 ⁷	8x10 ⁷	6x10 ⁷	9x10 ⁷
11	-	3x10 ⁷	35x10 ⁷	26x10 ⁷	21x10 ⁷	9x10 ⁷	3x10 ⁷	7x10 ⁷
12	-	4x10 ⁷	29x10 ⁷	11x10 ⁷	18x10 ⁷	6x10 ⁷	6x10 ⁷	2x10 ⁷
13	-	25x10 ⁷	24x10 ⁷	18x10 ⁷	3x10 ⁷	4x10 ⁷	9x10 ⁷	5x10 ⁷
14	-	11x10 ⁷	7x10 ⁷	24x10 ⁷	18x10 ⁷	3x10 ⁷	7x10 ⁷	13x10 ⁷
15	-	6x10 ⁷	15x10 ⁷	30x10 ⁷	16x10 ⁷	15x10 ⁷	22x10 ⁷	4x10 ⁷

Tabela 24 - Grupo A - Ph das amostras.

Nº DA AMOS- TRA	INI- CIAL	1ª SEM.	2ª SEM.	3ª SEM.	4ª SEM.	5ª SEM.	6ª SEM.	FINAL
01	7,1	6,9	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6	6,8
02	7,0	6,9	6,8	6,9	6,6	6,7	6,7	7,1
04	7,2	6,8	6,5	6,6	6,6	6,7	6,7	6,9
05	6,9	6,8	6,8	6,7	6,7	6,6	6,7	6,8
07	7,0	6,9	6,7	6,7	6,5	6,6	6,6	6,8
08	7,3	6,9	6,6	6,7	6,6	6,6	6,8	6,9
11	7,3	6,9	6,6	6,6	6,7	6,6	6,6	6,9
12	7,1	6,9	6,8	6,6	6,3	6,9	6,4	6,9
13	7,3	7,0	6,9	6,7	6,3	6,6	6,6	6,9
14	7,1	6,8	6,8	6,5	6,6	6,6	6,7	6,6
15	7,0	6,7	6,7	6,6	6,6	6,5	6,6	6,8

FICHA 1 - QUESTIONARIO PARA SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS

Nº _____ IDADE: _____ COR: _____ SEXO: _____

NACIONALIDADE: _____ PROFISSÃO: _____

ATIVIDADE FÍSICA: _____ TIPO E FREQUÊNCIA: _____

HÁBITOS ALIMENTARES

Nº de refeições por dia: _____ Tipo: _____

ALIMENTOS MAIS CONSUMIDOS

Carne: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Leite e Derivados: _____ Frequência: _____

Ovos: _____ Quantidade: _____ Frequência: _____

Cereais: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Leguminosas: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Frutas: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Verduras: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Legumes: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Doces: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Beb.alcoólica: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Medicamentos: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

Motivo: _____

Quantidade: _____ Sob receita: _____

Alterações do estômago: _____ Tipo: _____

Já tratou: _____ Tipo: _____

Atualmente: _____

Alterações intestinais: _____ Tipo: _____

Frequência de evacuações: _____

Toma laxativos: _____ Tipo: _____ Frequência: _____

OBSERVAÇÕES DURANTE O EXPERIMENTO

1ª SEMANA: _____

2ª SEMANA: _____

3ª SEMANA: _____

4ª SEMANA: _____

5ª SEMANA: _____

6ª SEMANA: _____

7ª SEMANA: _____

OBSERVAÇÕES APOS O TERMINO DO EXPERIMENTO

FICHA 2 - CONCORDANCIA DOS INDIVIDUOS EM PARTICIPAR DO EXPERIMENTO

D E C L A R A Ç A O

Declaro para os devidos fins que os individuos abaixo relacionados são todos voluntários em participar do experimento: *"Estudo sobre Implantação e Sobrevivência de Lactobacilos no Trato Intestinal de Humanos Adultos"* a ser realizada na Universidade do Sagrado Coração de Bauru o trabalho será feito através da ingestão de iogurte natural industrializado, oferecido pela NESTLE Industrial e Comercial. O produto a ser utilizado é de alta qualidade e inócuo à saúde.

Os voluntários tem plena liberdade de deixarem o experimento se o desejarem.

Bauru, 13 de março de 1989

RESPONSÁVEL: *Gersislei A. Salado*

VOLUNTARIOS: