



Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



PATHOLOGIES LIÉES AU MICROBIOTE

Nutrition entérale et microbiote ☆

Microbiota and enteral nutrition

S.-M. Schneider ^{a, b, c}

^a Pôle digestif, Centre hospitalier universitaire de Nice, France

^b Faculté de Médecine, Université de Nice Sophia-Antipolis, France

^c INSERM U907, Faculté de Médecine, Nice, France

Résumé La nutrition entérale est une thérapeutique nutritionnelle utilisée chez les patients hospitalisés, jusque chez 10 % d'entre eux. Elle représente dans l'apport des nutriments à l'intestin une modification brutale qui, jointe au stress métabolique et à l'impact des médicaments, est responsable d'une dysbiose marquée. Même s'il existe une très large variabilité entre sujets, la dysbiose est caractérisée par une diminution de la flore intestinale dominante, une augmentation des micro-organismes potentiellement pathogènes et une réduction du nombre de souches bactériennes individuelles. La caractéristique principale de ces modifications du microbiote est une diarrhée, avec ses multiples conséquences pour les patients. *Saccharomyces boulardii* est capable de prévenir la diarrhée associée à la nutrition entérale, probablement via une augmentation de la production des acides gras à chaîne courte. Outre son rôle dans l'apparition ou la prévention de la diarrhée, le microbiote peut être impliqué dans l'apport énergétique et les modifications du statut nutritionnel ; les manipulations du microbiote intestinal peuvent ainsi représenter une voie nouvelle pour augmenter l'efficacité de l'apport nutritionnel chez les patients alimentés par sonde.
© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary Enteral nutrition is a nutritional therapy that is used in up to 10 % of hospitalized patients. It represents a dramatic change in the provision of nutrients to the intestine and this, along with metabolic stress and drugs used, is responsible for a marked dysbiosis. Even though there is a huge between-subject variability, this dysbiosis is characterized by a decrease in the dominant flora, an increase in potentially pathogen microorganisms and a reduction in the number of individual strains. The main characteristic of these changes in the microbiota is diarrhea, which has many consequences in

Correspondance.

Adresse e-mail : stephane.schneider@unice.fr (S. Schneider)

☆ La version originale anglaise de cet article a été publiée dans le Suppl. 1. Pour citer cet article : Schneider S-M. Microbiota and enteral nutrition. *Gastroenterol Clin Biol* 2010;34:S57–S61.

these patients. *Saccharomyces boulardii* is able to prevent enteral nutrition-associated diarrhea, probably through an increase in short-chain fatty acid production. Alongside its role in the onset and prevention of diarrhea, the microbiota may be involved in energy harvest and changes in the nutritional status. Manipulations of the microbiota may therefore be a novel way to increase feeding efficiency in tube-fed patients.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

La nutrition entérale n'est plus un sujet marginal

La nutrition entérale (NE) est un traitement nutritionnel fondé sur la fourniture directe de nutriments au tube digestif, estomac ou duodénum, via une sonde d'alimentation. Elle peut être exclusive, quand le patient est nourri uniquement par NE, ou complémentaire, lorsque le patient continue de s'alimenter. Le rapport 2009 de l'enquête hospitalière réalisée à l'occasion de la Journée mondiale de la Nutrition (*nutritionDay worldwide*) a montré que, en Europe et au Japon, environ 10 % des patients hospitalisés reçoivent une NE, exclusive dans les deux tiers des cas (Fig. 1). Ces pourcentages sont en constante augmentation, ce qui s'explique par l'amélioration continue de la reconnaissance et du traitement de la dénutrition et par le fait que la NE, par opposition à la nutrition parentérale, est la voie optimale pour alimenter un patient pour lequel la voie orale ne suffit plus [1].

Nutrition entérale : un modèle de dysbiose

Les relations qui unissent le régime alimentaire et le microbiote intestinal font encore l'objet de multiples

controverses. Alors que les variations d'un jour à l'autre d'une alimentation normale de type occidental ne s'accompagnent que de modifications modestes du microbiote intestinal [2], celles-ci peuvent être bien plus substantielles en cas de changement extrême du régime, comme le jeûne ou l'adoption d'un régime élémentaire dépourvu de fibres. Ces faits ont été décrits chez l'animal, notamment chez le rat, à l'occasion de travaux visant à rechercher une possible translocation bactérienne à partir de l'intestin [3-5]. Des études chez l'homme ont été menées chez des volontaires sains alimentés selon un régime chimiquement défini. Outre une réduction du volume du bol fécal, les modifications rapportées incluent une diminution du nombre des entérocoques [6-8] et une augmentation du nombre des entérobactéries [6, 8]. La production intestinale d'hydrogène augmente en cas de pullulation bactérienne dans l'intestin grêle. Pimentel et al. ont montré que chez ces patients la transition d'un régime habituel à un régime élémentaire était capable de normaliser le test respiratoire à l'hydrogène [9]. On peut dès lors s'attendre à ce que la nutrition artificielle, notamment quand elle est exclusive, induise des modifications du microbiote intestinal.

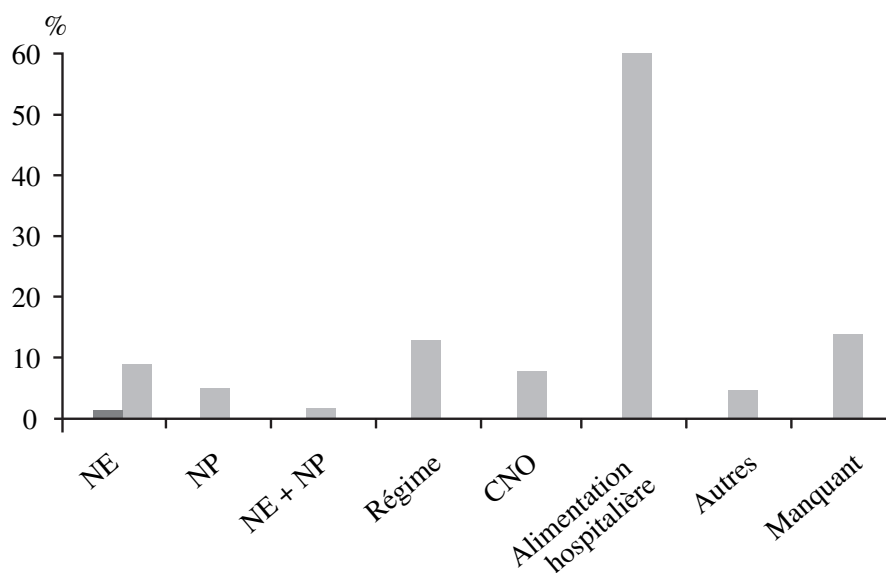


Figure 1 Sources nutritionnelles chez 11 296 patients hospitalisés : enquête 2009 nutrition Day in Hospitals Worldwide (<http://www.nutritionday.org>). NE : nutrition entérale ; CNO : compléments nutritionnels protéino-énergétiques ; NP : nutrition parentérale.

Il existe chez les patients nourris par sonde de nombreux autres facteurs susceptibles également de perturber le microbiote normal. En premier lieu, la plupart des patients hospitalisés qui reçoivent une NE souffrent de stress métabolique. Du fait de la phase aiguë de la réaction inflammatoire, une réduction significative de la flore commensale est observée précocement au cours du processus pathologique [10]. Dans la pancréatite expérimentale, les bactéries anaérobies et les lactobacilles diminuent de façon significative dès les 6 à 12 heures qui suivent l'induction, aussi bien dans la partie distale de l'intestin grêle que dans le côlon. Ces modifications sont presque instantanément suivies d'une pullulation microbienne significative, impliquant des micro-organismes potentiellement pathogènes comme *Escherichia coli*, et d'une augmentation brutale de la perméabilité de la barrière muqueuse (de la lumière vers la circulation) et de la perméabilité endothéliale (de la circulation vers les tissus) [11]. Il en résulte une augmentation du risque de translocation microbienne et de bactériémie [12]. La privation de nourriture, l'antibiothérapie, la préparation colique et l'utilisation habituelle de formulations de NE dépourvues de fibres sont autant de raisons supplémentaires qui induisent des perturbations profondes du microbiote chez ces patients.

Caractéristiques du microbiote intestinal au cours de la nutrition par sonde

Il existe de toute évidence chez les patients soumis à une NE exclusive prolongée une dysbiose, c'est-à-dire une rupture majeure de l'équilibre du microbiote : chute du nombre des bactéries anaérobies fécales et augmentation du nombre des bactéries aérobies (Fig. 2) [13]. Les modifications du microbiote intestinal induites par une alimentation entérale polymérique et dépourvue de fibres peuvent être comparées à celles qu'induisent des antibiotiques à large spectre comme la ceftriaxone ou la ciprofloxacine [14, 15]. Ces effets peuvent être synergiques [16] et expliquent pourquoi les antibiotiques sont un facteur de risque de diarrhée induite par la NE [17, 18] et pourquoi la NE est un facteur de risque

de diarrhée induite par les antibiotiques [19] et d'infection par *Clostridium difficile* [20]. Ces résultats ont toutefois été obtenus par des techniques d'identification et de culture qui ne sont plus de nos jours considérées comme optimales pour l'étude du microbiote. De nouvelles techniques de biologie moléculaire se sont depuis lors développées et ont largement supplanté les anciennes méthodes. Dans une étude récente, Whelan et coll. ont analysé par hybridation fluorescente *in situ* le microbiote fécal de 20 patients alimentés par NE totale [21]. Les auteurs ont réalisé des mesures des groupes bactériens au début, au milieu et à la fin d'une période de 14 jours d'alimentation entérale. Ils rapportent l'absence de modification intra-individuelle de leur concentration ou de leur proportion, quel que soit le groupe bactérien. Toutefois, loin d'être stables, les données individuelles indiquaient dans certains cas d'importantes réductions, dans d'autres d'importantes augmentations, dans d'autres enfin une grande stabilité du microbiote. La très grande variabilité du microbiote de ces patients suggère le rôle possible de facteurs autres que l'âge ou l'antibiothérapie, facteurs qui n'étaient pas associés dans cette étude à une modification mesurable du microbiote [21].

Conséquences de la dysbiose chez les patients alimentés par sonde : diarrhée associée à la nutrition entérale

Les acides gras à chaîne courte (AGCC) sont l'un des plus importants produits des bactéries anaérobies dans le côlon. Ils représentent pour la cellule colique la principale source d'énergie et sont impliqués dans l'absorption de l'eau et des électrolytes par la muqueuse colique. Il a été montré que les AGCC abolissent la sécrétion d'eau et d'électrolytes induite dans le côlon ascendant par l'alimentation entérale [22] et ils représentent sans doute le lien entre la diarrhée sous NE et le microbiote intestinal. De fait, avec une incidence pouvant aller jusqu'à 63 %, la diarrhée est la complication la plus fréquente de la NE [23]. Ses conséquences sont multiples, du simple inconfort jusqu'à une acidose mettant en jeu le pronostic vital. La diarrhée augmente la morbidité

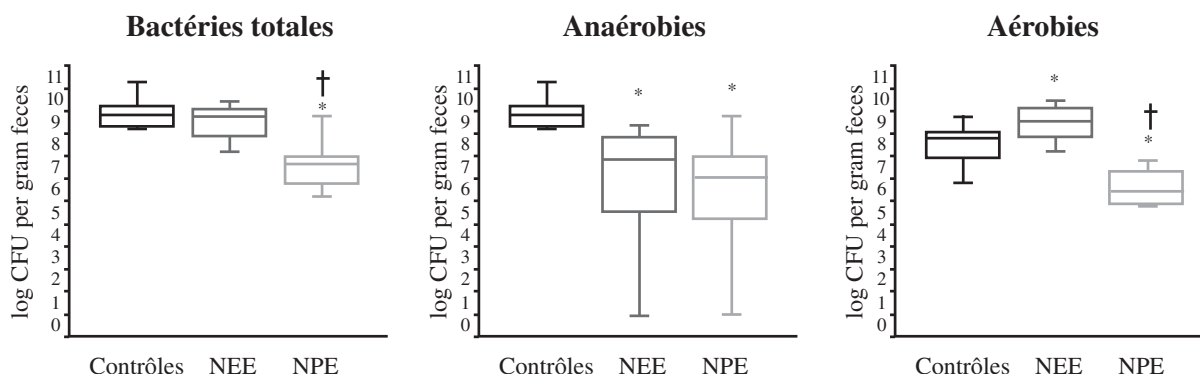


Figure 2 Principales populations bactériennes chez les patients en nutrition artificielle exclusive. NEE : nutrition entérale exclusive ; NPE : nutrition parentérale exclusive ; * : $p < 0,01$ vs témoins ; † : $p < 0,01$ vs patients NEE.

(notamment le risque d'escarres) et la mortalité. Elle peut imposer l'interruption de la NE et majore le coût de la prise en charge pour les acteurs du système de soins [24]. Il semble qu'il existe chez les patients nourris par sonde qui développent une diarrhée une altération particulière du microbiote. Dans l'étude de Whelan [21], les patients qui développaient une diarrhée se distinguaient par des concentrations et des proportions plus élevées de *Clostridium* et par des proportions plus élevées de *Bacteroides*.

Interventions sur le microbiote intestinal chez les patients alimentés par sonde

Trois études randomisées avec groupe témoin ont rapporté l'efficacité de la levure probiotique *Saccharomyces boulardii* (2 g/j) pour la prévention de la diarrhée chez les patients bénéficiant d'une NE totale en unité de soins intensifs [25-27]. La diminution du nombre de journées-patients avec diarrhée était comprise entre 25 % et 83 %. Cependant, ces études ne posaient pas la question des mécanismes d'action du probiotique. C'est pourquoi nous avons mis en place une étude prospective pour évaluer chez des patients en NE totale les effets de *Saccharomyces boulardii* sur les AGCC fécaux et le microbiote intestinal [28]. Au terme de six jours de supplémentation par la levure, il a été observé dans les fèces une augmentation significative de la concentration totale d'AGCC et de la concentration de butyrate, sans modification du microbiote (identification et culture). La prévention de la diarrhée induite par la NE rapportée dans les essais cliniques pourrait ainsi s'expliquer par l'augmentation de la concentration des AGCC, responsable d'une augmentation de l'absorption de l'eau et des électrolytes et d'une réduction du pH colique. Dans une autre étude randomisée avec groupe témoin, des patients hospitalisés recevant une NE ont reçu ou non une culture mixte viable de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (1 g trois fois par jour). Il n'a été noté aucune différence d'incidence de la diarrhée entre les deux groupes [29]. À la différence de *Saccharomyces boulardii*, les lactobacilles par voie orale n'augmentent pas les taux d'AGCC dans les fèces [30, 31], ce qui pourrait rendre compte de ces résultats négatifs.

Les prébiotiques peuvent aussi influencer le microbiote fécal et augmenter les taux d'AGCC dans le côlon. Il a été montré chez des sujets sains, par comparaison à des témoins recevant une alimentation pauvre en résidus, que la supplémentation de l'alimentation entérale par des fructo-oligosaccharides entraîne une augmentation des bifidobactéries [32]. Dans une autre étude, réalisée chez 20 sujets âgés hospitalisés recevant une NE, il a été démontré que l'administration pendant deux semaines de fibres alimentaires solubles (galactomannanes) diminue le contenu en eau des fèces et la fréquence des mouvements péristaltiques journaliers [33]. Ces résultats étaient associés à une augmentation des taux d'AGCC fécaux, significative pour les AGCC totaux, pour l'acétate et pour le propionate. Nous avons également montré, chez des patients soumis à une NE totale prolongée, qu'une formule polymérique enrichie avec un mélange de six fibres était capable d'augmenter les taux d'AGCC fécaux, en particulier celui du butyrate.

Perspectives : augmenter l'efficacité des apports en nutrition entérale

L'influence de la flore dominante sur le bilan énergétique et par voie de conséquence sur le statut nutritionnel est un champ d'étude nouveau et prometteur au milieu des constants progrès accomplis dans la connaissance du microbiote intestinal [34]. Plusieurs mécanismes sont potentiellement à l'œuvre : en premier lieu, grâce à la production d'AGCC, le microbiote intestinal est susceptible d'augmenter la capacité pour un individu de se procurer de l'énergie à partir de l'alimentation ; en second lieu, le microbiote intestinal pourrait tenir sous son contrôle le devenir des triglycérides via une adipokine, le facteur adipeux induit par le jeûne (*fasting-induced adipose factor*, FIAF) ; enfin, la modulation du microbiote intestinal peut influencer sur le taux plasmatique de lipopolysaccharides, qui module la tonalité inflammatoire et déclenche les conséquences métaboliques de l'inflammation [35]. Si ce champ d'investigation est d'une actualité particulièrement brûlante pour les chercheurs engagés dans l'étude du diabète de type 2 et de l'obésité, il est également prometteur dans le traitement de la dénutrition.

Dans une étude animale, des rats ont été soumis à un jeûne de trois jours puis réalimentés pendant trois jours avec un régime standard ou avec un régime iso-azoté et iso-énergétique supplémenté par deux bactéries : *Bifidobacterium lactis* BL et *Streptococcus thermophilus*. Par comparaison avec un groupe de rats non soumis au jeûne ou avec le groupe réalimenté sans probiotiques, le groupe réalimenté avec des probiotiques avait une efficacité alimentaire (rapport du gain de poids sur la quantité de nourriture absorbée) augmentée de 57 % [36]. À notre connaissance, une seule étude de ce type a été réalisée chez l'homme. Vingt-quatre sujets âgés hospitalisés, atteints de démence, ont été réalimentés par NE totale pendant 12 semaines. Après randomisation, les sujets ont reçu ou non chaque jour un lait fermenté contenant du *Lactobacillus johnsonii* La1 (10^9 unités formant colonies) et du *Streptococcus thermophilus* (10^8 unités formant colonies) [37]. Les deux régimes étaient iso-azotés et iso-énergétiques. Au terme de l'étude, aucune différence n'a été observée entre les microbiotes des deux groupes. En revanche, dans le groupe ayant reçu des probiotiques, par comparaison au groupe témoin, l'amplitude de l'augmentation du taux d'albumine sérique a été significativement plus importante : l'albuminémie est passée dans ce groupe de $34,3 \pm 3,2$ à $35,8 \pm 2,5$, contre $33,9 \pm 3,6$ à $35,0 \pm 3,2$ g/l chez les témoins, $p < 0,01$. De plus, le pourcentage de jours avec infection a été plus faible. Il n'y a pas eu de modification du poids corporel, mais ceci s'explique probablement par l'insuffisance de la teneur protéique et énergétique de la NE totale (900 kcal/j) pour parvenir à ce résultat.

Conclusions

La NE exclusive est un modèle de dysbiose dont la conséquence majeure est la diarrhée. Les effets préventifs de *Saccharomyces boulardii* dans cette situation pourraient

être dus à sa capacité à augmenter les taux fécaux d'AGCC. À n'en pas douter, le prochain défi à relever dans la manipulation du microbiote intestinal sera d'obtenir une meilleure efficacité nutritive grâce à l'utilisation de probiotiques.

Conflits d'intérêts

L'auteur a reçu des honoraires de Biocodex pour une communication relative au présent article. La société Biocodex n'a revu ni le texte de la conférence ni celui de l'article. Elle a accordé un soutien financier à l'une des études publiées par l'auteur [28].

Références

- [1] Lochs H, Allison SP, Meier R, Pirlich M, Kondrup J, Schneider S, et al. Introductory to the ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Terminology, Definitions and General Topics. *Clin Nutr* 2006;25:180-6.
- [2] Cummings JH, Wiggins HS, Jenkins DJ, Houston H, Jivraj T, Drasar BS, et al. Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. *J Clin Invest* 1978;61:953-63.
- [3] Barnes EM, Burton GC. The effect of hibernation on the caecal flora of the thirteen-lined ground squirrel. *J Appl Bacteriol* 1970;33:505-14.
- [4] Mainous M, Xu DZ, Lu Q, Berg RD, Deitch EA. Oral TPN-induced bacterial translocation and impaired immune defenses are reversed by refeeding. *Surgery* 1991;110:277-83.
- [5] Spaeth G, Specian RD, Berg RD, Deitch EA. Bulk prevents bacterial translocation induced by the oral administration of total parenteral nutrition solution. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990;14:442-7.
- [6] Attebery HR, Sutter VL, Finegold SM. Effect of a partially chemically defined diet on normal human fecal flora. *Am J Clin Nutr* 1972;25:1391-8.
- [7] Bounous G, Devroede GJ. Effects of an elemental diet on human fecal flora. *Gastroenterology* 1974;66:210-4.
- [8] Crowther JS, Drasar BS, Goddard P, Hill MJ, Johnson K. The effect of a chemically defined diet on the faecal flora and faecal steroid concentration. *Gut* 1973;14:790-3.
- [9] Pimentel M, Constantino T, Kong Y, Bajwa M, Rezaei A, Park S. A 14-day elemental diet is highly effective in normalizing the lactulose breath test. *Dig Dis Sci* 2004;49:73-7.
- [10] Bengmark S. Gut microbial ecology in critical illness: is there a role for prebiotics, probiotics, and synbiotics? *Curr Opin Crit Care* 2002;8:145-51.
- [11] Leveau P, Wang X, Soltesz V, Ihse I, Andersson R. Alterations in intestinal motility and microflora in experimental acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1996;20:119-25.
- [12] Besselink mg, van Santvoort HC, Renooij W, de Smet MB, Boermeester MA, Fischer K, et al. Intestinal barrier dysfunction in a randomized trial of a specific probiotic composition in acute pancreatitis. *Ann Surg* 2009;250:712-9.
- [13] Schneider SM, Le Gall P, Girard-Pipau F, Piche T, Pompei A, Nano JL, et al. Total artificial nutrition is associated with major changes in the fecal flora. *Eur J Nutr* 2000;39:248-55.
- [14] Welling GW, Meijer-Severs GJ, Helmus G, van Santen E, Tonk RH, de Vries-Hospers HG, et al. The effect of ceftriaxone on the anaerobic bacterial flora and the bacterial enzymatic activity in the intestinal tract. *Infection* 1991;19:313-6.
- [15] Meijer-Severs GJ, van Santen E, de Vries-Hospers HG. Low-dose ciprofloxacin for selective decontamination of the digestive tract in human volunteers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:285-7.
- [16] Silk DBA. Towards the optimization of enteral nutrition. *Clin Nutr* 1987;6:61-74.
- [17] Keohane PP, Attrill H, Love M, Frost P, Silk DB. Relation between osmolality of diet and gastrointestinal side effects in enteral nutrition. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984;288:678-80.
- [18] Guenter PA, Settle RG, Perlmutter S, Marino PL, DeSimone GA, Rolandelli RH. Tube feeding-related diarrhea in acutely ill patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1991;15:277-80.
- [19] Surawicz cm, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, Chinn J, van Belle G. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* : a prospective study. *Gastroenterology* 1989;96:981-8.
- [20] Bliss DZ, Johnson S, Savik K, Clabots CR, Willard K, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients receiving tube feeding. *Ann Intern Med* 1998;129:1012-9.
- [21] Whelan K, Judd PA, Tuohy KM, Gibson GR, Preedy VR, Taylor MA. Fecal microbiota in patients receiving enteral feeding are highly variable and may be altered in those who develop diarrhea. *Am J Clin Nutr* 2009;89:240-7.
- [22] Bowling TE, Raimundo AH, Grimble GK, Silk DB. Reversal by short-chain fatty acids of colonic fluid secretion induced by enteral feeding. *Lancet* 1993;342:1266-8.
- [23] Bliss DZ, Guenter PA, Settle RG. Defining and reporting diarrhea in tube-fed patients - what a mess! *Am J Clin Nutr* 1992;55:753-9.
- [24] Adam S, Batson S. A study of problems associated with the delivery of enteral feed in critically ill patients in five ICUs in the UK. *Intensive Care Med* 1997;23:261-6.
- [25] Bleichner G, Blehaut H, Mentec H, Moysse D. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med* 1997;23:517-23.
- [26] Schlotterer M, Bernasconi P, Lebreton F, Wassermann D. Intérêt de *Saccharomyces boulardii* dans la tolérance digestive de la nutrition entérale à débit continu chez le brûlé. *Nutr Clin Metabol* 1987;1:31-4.
- [27] Tempé JD, Steidel AL, Bléhaut H, Hasselmann M, Lutun P, Maurier F. Prévention par *Saccharomyces boulardii* des diarrhées de l'alimentation entérale à débit continu. *Sem Hop* 1983;59:1409-12.
- [28] Schneider SM, Girard-Pipau F, Filippi J, Hébuterne X, Moysse D, Hinojosa GC, et al. Effects of *Saccharomyces boulardii* on fecal short-chain fatty acids and microflora in patients on long-term total enteral nutrition. *World J Gastroenterol* 2005;11:6165-9.
- [29] Heimburger DC, Sockwell DG, Geels WJ. Diarrhea with enteral feeding: prospective reappraisal of putative causes. *Nutrition* 1994;10:392-6.
- [30] Hove H, Nordgaard-Andersen I, Mortensen PB. Effect of lactic acid bacteria on the intestinal production of lactate and short-chain fatty acids, and the absorption of lactose. *Am J Clin Nutr* 1994;59:74-9.
- [31] Fukuda M, Kanauchi O, Araki Y, Andoh A, Mitsuyama K, Takagi K, et al. Prebiotic treatment of experimental colitis with germinated barley foodstuff : a comparison with probiotic or antibiotic treatment. *Int J Mol Med* 2002;9:65-70.
- [32] Whelan K, Judd PA, Preedy VR, Taylor MA. Enteral feeding: the effect on faecal output, the faecal microflora and SCFA concentrations. *Proc Nutr Soc* 2004;63:105-13.
- [33] Nakao M, Ogura Y, Satake S, Ito I, Iguchi A, Takagi K, et al. Usefulness of soluble dietary fiber for the treatment of diarrhea during enteral nutrition in elderly patients. *Nutrition* 2002;18:35-9.
- [34] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*

- 2006;444:1022-3.
- [35] Cani PD, Delzenne NM. Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10:729-34.
- [36] Dock DB, Latorraca MQ, Aguilar-Nascimento JE, Gomes-da-Silva MH. Probiotics enhance recovery from malnutrition and lessen colonic mucosal atrophy after short-term fasting in rats. *Nutrition* 2004;20:473-6.
- [37] Fukushima Y, Miyaguchi S, Yamano T, Kaburagi T, Iino H, Ushida K, et al. Improvement of nutritional status and incidence of infection in hospitalised, enterally fed elderly by feeding of fermented milk containing probiotic *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC533). *Br J Nutr* 2007;98:969-77.