

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

**TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NO COTO
COLÔNICO DISTAL DESFUNCIONALIZADO –
ESTUDO EM RATOS**

Francisco Edilson Leite Pinto Junior

Recife

2005

VIRTUS IMPAVIDA

Francisco Edilson Leite Pinto Junior

**“TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NO
COTO COLÔNICO DISTAL
DESFUNCIONALIZADO – ESTUDO EM
RATOS”**

**Tese apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia,
do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para obtenção do grau de
Doutor.**

Orientadores:

Interno: Prof. Carlos Teixeira Brandt

Externo: Prof. Aldo da Cunha Medeiros

**Pesquisa realizada no Núcleo e Cirurgia Experimental do
Depto. de Cirurgia da UFRN.**

Recife

2005

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 1010

P659t Pinto Júnior, Francisco Edilson Leite.
Translocação bacteriana no coto colônico distal desfuncionalizado –
estudo em ratos / Francisco Edilson Leite Pinto Júnior. – 2005.
51 f.: il.; tab.; quadr.; gráf.; 30 cm.

Orientador: Carlos Teixeira Brandt.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, 2005.
Inclui referências.

1. Translocação bacteriana. 2. Colite. 3. Ratos Wistar. I. Brandt,
Carlos Teixeira (Orientador). II. Título.

617.91

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2016-041)

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE - REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E

PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Celso Pinto de Melo

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Tadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof^a. Heloísa Mendonça de Moraes

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

CHEFE

Prof. Sílvio Romero de B. Marques

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

COORDENADOR

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

VICE - COORDENADOR

Prof. Sílvio Caldas

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Antônio Roberto Barros Coelho

Prof. Carlos Augusto Matias

Prof. Carlos Roberto Ribeiro de Moraes

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Frederico Teixeira Brandt

Prof. Jairo de Andrade Lima

Prof. Joaquim Alves Norões

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Marcello Jorge de Castro Silveira

Prof. Nelson Costa Rego Caldas

Prof. Oyama Arruda Frei Caneca

Prof. Renato Dornelas Câmara Neto

Prof. Ricardo José Caldas Machado

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Saulo Monteiro dos Santos

Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

Prof. Tércio Souto Bacela

“Translocação Bacteriana no Coto Colônico Distal Desfuncionalizado – Estudo em Ratos

FRANCISCO EDILSON LEITE PINTO JUNIOR

APROVADA EM: 30/06/2005

ORIENTADOR INTERNO: CARLOS TEIXEIRA BRANDT

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. CLÁUDIO MOURA LACERDA DE MELO (CCS/UFPE)

Prof. Dr. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR (CCS/UFPE)

Prof. Dr. FEDRERICO TEIXEIRA BRANDT (CCS/UFPE)

Prof. Dr. CÉLIA MARIA M. BARBOSA DE CASTRO (CCS/UFPE)

Prof. Dr. VERA MAGALHÃES DA SILVEIRA (CCS/UFPE)

"A diferença que existe entre o homem e os demais animais é que o homem é capaz de fazer perguntas. Ele é capaz de fazer perguntas e buscar respostas. É o preço que paga por isso, por ser humano, É ter a angústia da dúvida, formulando perguntas E buscando respostas. E sabendo de antemão que cada resposta Vai ter uma nova pergunta, mais complexa. Então eu diria: o destino inexorável do ser humano é fazer pesquisa".

(William Saad Hossne)

A meu Pai (in memoriam), as minhas duas mães, Gizelda e Zilda

*Aos maiores motivos de minha felicidade, pois, foi a partir
deles que passei a ver - e a ter - um sentido para a vida:
Viviane, minha esposa; Lucas, meu filho*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Carlos Texeira Brandt, pela orientação desse trabalho, pela amizade, pelo incentivo e pelo exemplo de amor à pesquisa. É verdadeiramente um mestre.

Ao Prof. Aldo da Cunha Medeiros, pelas valiosas sugestões e orientação, pelo apoio sempre presente em todas as etapas da minha vida acadêmica e principalmente, pela amizade – motivo, muitas vezes, de inveja nas pessoas pobres de espírito.

Ao Prof. Carlos Ernani Rosado Soares, o mestre dos mestres da cirurgia do nosso estado, pela amizade, incentivos e exemplo de médico dedicado ao paciente.

À amiga Maria Helena Marques Fonseca de Brito, farmacêutica microbiologista, do Centro de Patologia Clínica de Natal, pela competência e ajuda relevante na análise microbiológica desse trabalho. Sem o seu apoio, com certeza, teríamos desistido logo no início.

À Prof^ª. Selma Maria Bezerra Jerônimo e seu aluno de Pós-Graduação, Worgelsanger Pereira pelo interesse científico, pela ajuda fundamental na avaliação bioquímica do muco intestinal.

Ao Prof. Juarez da Costa Ferreira, Chefe do Centro de Ciências da Saúde da UFRN, pelo apoio recebido para realização desse curso de Pós-Graduação.

À Prof^a. Gilmara Alves Cavalcanti pela competência na análise estatística dos resultados.

À Prof^a. Felisbela Freitas de Oliveira, amiga certa nas horas incertas, cuja competência se fez presente na revisão do português do texto original.

Ao Amigo e irmão de coração, Dr. Álisson Giovani Freitas de Oliveira pela ajuda, valiosa, na elaboração das tabelas e gráficos.

Ao Secretário Ítalo Medeiros de Azevedo, pelo exemplo de dedicação profissional e, principalmente, pelo apoio fundamental durante a realização das cirurgias.

A todos os invejosos, antigos e atuais, pois sem eles, confesso que não teria tanta disposição para continuar sempre lutando por um “lugar melhor ao sol”.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
3. MÉTODO	11
3.1- DELINEAMENTO DO ESTUDO	11
3.2 – PREPARO DA SUSPENSÃO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	13
3.3 – TÉCNICA OPERATÓRIA	13
3.4 – COLETA DAS AMOSTRAS	15
3.5 – COLETA DO MUCO	15
3.6 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	16
3.7 – ANÁLISE DE AÇÚCARES NEUTROS E PROTEÍNAS TOTAIS DO MUCO	17
3.8 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
4.0 – RESULTADOS	18
4.1 – TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA POR SUBGRUPOS	21
4.2 – PERCENTUAL DE RECUPERAÇÃO BACTERIANA DOS ÓRGÃOS E TECIDOS DOS ANIMAIS SEGUNDO OS GRUPOS OBSERVADOS	23

4.3 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE UFC DOS ÓRGÃOS ANALISADOS DOS ANIMAIS SEGUNDO OS GRUPOS OBSERVADOS	25
4.4 – CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES NEUTROS E PROTEÍNAS TOTAIS DO MUCO	29
5.0 – DISCUSSÃO	32
5.1 – RELEVÂNCIA DO TEMA	32
5.2 – COLITE DE DERIVAÇÃO COMO MODELO EXPERIMENTAL	34
5.3 – AVALIAÇÃO DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA	37
5.4 – IMPORTÂNCIA DO MUCO INTESTINAL	39
5.5 – MECANISMOS DE TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA	40
6.0 – CONCLUSÕES	42
7.0 - REFERÊNCIAS	43

LISTA DE ABREVIATURAS

TB – Translocação bacteriana

NPT – Nutrição parenteral total

sIgA – Imunoglobulina A secretória

CD – Colite de derivação

AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta

UFRN – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

DPO – Dia de pós-operatório

ATCC - American Type Culture Collection

UFC/ml – Unidade formadora de colônias por mililitro

E. Coli - *Escherichia coli*

PVPI - Polivinil-pirrolidona-iodo

PBS – Tampão fosfato

BCA - Ácido bicinônico

Mg/ml – miligramas por mililitros

ITB – Índice de translocação bacteriana

FMO – Falência de múltiplos órgãos e sistemas

UTI – Unidade de terapia intensiva

TGI – Trato gastro-intestinal

DNA – Ácido DesoxiriboNucléico

PCR – Reação em cadeia da polimerase

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 – Pesos (em gramas) do fragmento de pulmão dos ratos do grupo A	18
TABELA 2 – Pesos (em gramas) do fragmento de fígado dos ratos do grupo A	18
TABELA 3 – Pesos (em gramas) do fragmento de baço dos ratos do grupo A	18
TABELA 4 – Pesos (em gramas) do fragmento de rim dos ratos do grupo A	19
TABELA 5 – Pesos (em gramas) do fragmento de linfonodo dos ratos do grupo A	19
TABELA 6 – Pesos (em gramas) do fragmento de pulmão dos ratos do grupo B	19
TABELA 7 – Pesos (em gramas) do fragmento de fígado dos ratos do grupo B	19
TABELA 8 – Pesos (em gramas) do fragmento de baço dos ratos do grupo B	20
TABELA 9 – Pesos (em gramas) do fragmento de rim dos ratos do grupo B	20
TABELA 10 – Pesos (em gramas) do fragmento de linfonodo dos ratos do grupo B	20
TABELA 11 – Frequência de translocação bacteriana (TB) por subgrupos	21
TABELA 12 – Índice de translocação bacteriana (ITB) por subgrupos	22
TABELA 13 – Percentual de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos analisados dos animais dos subgrupos A3 e B3	23
TABELA 14 – Percentual de hemocultura positiva para <i>Escherichia coli</i> ATCC dos animais dos subgrupos A3 e B3	24

TABELA 15 – Concentração média de UFC do pulmão entre os subgrupos A3 e B3	25
TABELA 16 – Concentração média de UFC do fígado entre os subgrupos A3 e B3	25
TABELA 17 – Concentração média de UFC do baço entre os subgrupos A3 e B3	27
TABELA 18 – Concentração média de UFC do rim entre os subgrupos A3 e B3	27
TABELA 19 – Concentração média de UFC do linfonodo entre os subgrupos A3 e B3	28
TABELA 20 – Concentração de açúcares neutros nos subgrupos A4 e B4	29
TABELA 21 – Concentração de proteínas totais nos subgrupos A4 e B4	30

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Frequência de translocação bacteriana por subgrupos	21
Figura 2 – Índice de translocação bacteriana (ITB) por subgrupos	22
Figura 3 – Percentual de translocação bacteriana dos órgãos e tecidos nos subgrupos A3 e B3	24
Figura 4 – Percentual de hemocultura positiva para <i>Escherichia coli</i> ATCC entre os subgrupos A3 e B3	25
Figura 5 – Concentração média de UFC do pulmão entre os subgrupos A3 e B3	26
Figura 6 – Concentração média de UFC do fígado entre os subgrupos A3 e B3	26
Figura 7 – Concentração média de UFC do baço entre os subgrupos A3 e B3	27
Figura 8 – Concentração média de UFC do linfonodo entre os subgrupos A3 e B3	28
Figura 9 – Concentração de açúcares neutros por subgrupos A4 e B4 (mg/ml)	30
Figura 10 – Concentração de proteínas totais por subgrupos A4 e B4 (mg/ml)	31

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar se as alterações do cólon desfuncionalizado, evidenciadas na colite de derivação fecal (CD), seriam capazes de permitir Translocação Bacteriana (TB). Foram utilizados 62 ratos Wistar, machos, pesando entre 220 e 320 gramas, divididos em dois grupos: A (Colostomia) e B (Controle), contendo cada um 31 animais. No grupo A, todos os animais foram submetidos à colostomia, terminal boca única, em cólon ascendente. A partir do 70º dia de observação os seguintes procedimentos foram adotados: em cinco ratos foi injetado por via retal – no segmento desfuncionalizado - 2ml de uma solução salina 0,9% nos animais (subgrupo A1); em oito animais inoculou-se, por via retal, uma solução de 2ml contendo *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), na concentração de 10^8 Unidades Formadoras de Colônias por mililitros (UFC/ml) - Subgrupo A2; em dez animais inoculava-se a mesma solução de *Escherichia coli*, na concentração de 10^{11} UFC/ml (Subgrupo A3); e em oito animais colhia-se o muco encontrado no segmento colônico distal desfuncionalizado, para dosagens de açúcares neutros e proteínas totais (subgrupo A4). Nos animais do grupo B (controle) não foi confeccionada a colostomia nos ratos, no entanto, todos os outros eventos realizados no grupo A foram repetidos. Nos animais dos subgrupos A1, A2, A3, B1, B2, e B3, após serem mortos, realizou-se punção cardíaca para coleta de 2ml de sangue e retiraram-se fragmentos de tecidos de linfonodo do mesocólon, fígado, baço, pulmão e rim, para análise microbiológica. Essa análise consistia em evidenciar, em placas de Petri, contendo meio de cultura ágar-Mac Conkey, a presença de UFC de *Escherichia coli* ATCC 25922. Os testes de Mann-Whitney e Anova foram

aplicados como técnicas investigativas para associação das variáveis. A ocorrência de TB, só foi evidenciada nos animais em que a concentração inoculada de *Escherichia coli* ATCC 25922, atingia níveis de 10^{11} UFC/ml, ou seja nos Subgrupos A3 e B3, no entanto, sendo significativamente superior (80%) nos animais sem colostomia (subgrupo B3) quando comparados com os ratos com colostomia (20%) do subgrupo A3 ($P < 0,05$). Pulmão, fígado e linfonodo foram os tecidos com maior percentual de recuperação bacteriana, tanto no subgrupo A3, quanto no B3. A hemocultura foi considerada positiva em 60 % dos animais do subgrupo B3 e em 10% do subgrupo A3 ($p < 0,05$). Houve maior concentração de açúcares neutros, no subgrupo A4 - média 27,3mg/ml -, do que no subgrupo B4 - média 8,4mg/ml – ($P < 0,05$). Conclui-se que as modificações na arquitetura da mucosa intestinal na CD podem promover alterações na barreira intestinal, mas não necessariamente conduz a maior frequência de TB.

Palavras-chave: Translocação bacteriana. Colite. Ratos Wistar.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate if the alterations of the diverted colon segment mucosa, evidenced in fecal colitis, would be able to alter Bacterial Translocation (BT). Sixty-two Wistar male rats ranging from 220 to 320 grams of weight, divided in two groups: A (Colostomy) and B (Controls), with 31 animals each one. In group A, all animals underwent end colostomy, one stoma, in ascending colon; and in the 70th POD was injected in five rats, by rectal route – diverted segment - 2ml of a 0.9% saline solution in animals (A1 subgroup); in eight animals was inoculated, by rectal route, 2ml of a solution containing *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), in a concentration of 10⁸ Colony Forming Unit for milliliters (CFU/ml) - A2 Subgroup; in ten animals the same solution of *E. coli* was inoculated, in a concentration of 10¹¹ CFU/ml (A3 Subgroup); and in eight animals was collected part of the mucus found in the diverted distal colonic segment for neutral sugars and total proteins dosage (A4 subgroup). The animals from the group B underwent the same procedures of group A, but with differences in the colostomy confection. Animals from subgroups A1, A2, A3, B1, B2, and B3, had had 2ml of blood aspirated from the heart and had taken fragments from mesocolon lymphnodes, liver, spleen, lung and kidney, for microbiological analysis, after their death. That analysis consisted of evidencing, in Petri dishes, containing agar-Mac Conkey as culture medium, the presence of *Escherichia coli* ATCC 25922 CFU. Mann-Whitney and Anova Tests were applied as analytic techniques for association of variables. The occurrence of BT was evidenced only in those animals in which inoculated concentration of *Escherichia coli* ATCC 25922, reached levels of 10¹¹CFU/ml, i.e. in Subgroups A3 and B3, although, being significantly greater (80%) in those animals without colostomy (subgroup B3) when

compared to the ones with colostomy (20%) from the subgroup A3 ($P < 0.05$). Lung, liver and lymphnode were the tissues with larger percentile of bacterial recovery, so much in subgroup A3, as in B3. Blood culture was considered positive in 60% of the animals from subgroup B3 and in 10% of those from subgroup A3 ($p < 0.05$). There was greater concentration of neutral sugars, in subgroup A4 - mean 27.3mg/ml -, than in subgroup B4 - mean 8.4mg/ml - ($P < 0.05$). It can be concluded that modifications in the architecture of intestinal mucosa in the DC, can cause alterations in the intestinal barrier, but it does not necessarily lead to an increased frequency of BT.

Key words: Bacterial translocation. Colitis. Rats Wistar

INTRODUÇÃO

A translocação bacteriana (TB) pode ser definida como a passagem da microflora intestinal - e seus produtos (endotoxinas) - através da lâmina própria para os linfonodos mesentéricos, órgãos intra e extraperitoneais e circulação sistêmica^{1, 2, 3, 4}.

A disseminação sistêmica de bactérias em pacientes que morrem de sepse ou falência de múltiplos órgãos, sem um foco séptico identificado clinicamente ou na autópsia, sugere que esta infecção pode ter sido originada no intestino^{2, 3}.

Em até 16% dos pacientes submetidos a laparotomia pode-se evidenciar a translocação bacteriana, sendo a sepse encontrada em 41% deles. A *Escherichia coli* é o microorganismo mais freqüentemente isolado^{1, 4}.

Alterações ao nível da barreira mucosa (integridade epitelial) bem como modificações da microflora intestinal, situações estas evidenciadas nos casos de choque (com diminuição do fluxo sanguíneo esplâncnico), uso de nutrição parenteral total, antibioticoterapia prolongada, quadro de obstrução intestinal, grandes queimados, uso de imunossupressores, uso de drogas citotóxicas e manipulação intestinal durante o ato cirúrgico entre outras, são considerados fatores predisponentes para o aparecimento da TB⁵.

Sabe-se que a mucosa intestinal, além de absorver e digerir os nutrientes, também funciona como um importante mecanismo de barreira, impedindo a passagem de bactérias, endotoxinas e outros elementos do conteúdo intraluminal para sítios extra-intestinal⁵.

Observa-se um aumento de complicações sépticas em pacientes que são submetidos a regimes de nutrição parenteral total (NPT), quando comparados aos que utilizam a nutrição enteral, pois a ausência de nutrientes intraluminiais, causa disfunção no enterócito,

bem como atrofia da mucosa intestinal que, dessa forma, pode facilitar a translocação bacteriana^{5,6}.

A colite de derivação fecal, condição clínica encontrada em quase 100% dos pacientes submetidos à colostomia desfuncionalizante, conduz a uma atrofia da mucosa intestinal colônica e, por conseguinte, poderia predispor ao aparecimento da TB^{7,8}.

Com alguma frequência, quando colostomias são feitas resultando em segmentos de cólon desfuncionalizado certamente provocam casos de colite de derivação fecal. Esta entidade clínica tem sido pouco estudada e uma pesquisa minuciosa na literatura médica revelou a inexistência de trabalhos associando colite de derivação fecal com a presença de translocação bacteriana.

O objetivo, portanto, do presente trabalho foi investigar se as alterações histopatológicas do cólon desfuncionalizado, evidenciadas na colite de derivação fecal, seriam capazes de facilitar o aparecimento da TB.

REVISÃO DA LITERATURA

O intestino é um órgão complexo cujas funções primárias são a digestão e a absorção dos alimentos. No entanto, outra importância fundamental é a função de defesa imunológica que exerce, prevenindo a difusão de bactérias e endotoxinas localizadas no interior do intestino para órgãos e tecidos à distância⁹. Dessa forma, o intestino atua como uma interface delimitando o conteúdo intraluminal séptico: rico em bactérias e produtos tóxicos, do território esplâncnico-sistêmico, asséptico^{10,11}. A constatação dessa última função fez surgir o conceito de barreira mucosa intestinal, cuja efetividade – semelhante às outras barreiras biomecânicas como a pele e o epitélio ciliado traqueobrônquico – seria impedir o ingresso de bactérias endógenas do intestino e/ou de suas toxinas em sítios extra-intestinais¹².

É muito grande a concentração de bactérias, presentes no intestino delgado e cólon – sendo este a região do organismo mais intensamente colonizada, apresentando uma microflora mista, com predomínio absoluto de germes anaeróbios, que atingem a proporção de 1000 para 1 aeróbio, numa concentração estimada de 200 a 400 bilhões de germes por grama de fezes úmidas¹³. O fato de não ocorrer, normalmente, sepse de origem intestinal, em indivíduos saudáveis, significa que existe uma barreira mucosa intestinal, cuja falha – deixando passar bactérias ou toxinas através do intestino – pode resultar no aparecimento da translocação bacteriana^{9,11}.

O termo translocação bacteriana (TB), portanto, serve para descrever o fenômeno pelo qual, bactérias atravessam a barreira mucosa do intestino e sobrevivem em órgãos ou tecidos normalmente estéreis. Foi empregado inicialmente, por Wolochow¹⁰, em 1966, muito embora, na década de 50, um estudo experimental em cães submetidos a choque

hemorrágico - proposto por Fine¹⁴, tenha evidenciado uma sobrevida maior nos animais que faziam uso de antibioticoterapia previamente ao choque. Dos animais que não receberam antimicrobianos, 80 % morreram. Fine, dessa forma, atribuiu a um “fator bacteriano” originado no intestino a causa da irreversibilidade do choque, principalmente, por ter constatado a existência de maior número de bactérias no sangue portal quando comparou com o sangue da veia cava¹⁴.

Em 1979, Berg e Garlinton¹⁵ demonstraram que bactérias intestinais poderiam atravessar a parede intestinal, alcançando os linfonodos mesentéricos e outros órgãos distantes, estabelecendo em definitivo o conceito de TB.

A partir de então, surgiu a idéia segundo a qual o intestino é um potencial e importante reservatório de bactérias e fungos, causadores de infecções sistêmicas, principalmente, em pacientes imunodeprimidos: transplantados, ou ainda, naqueles acometidos por choque hemorrágico, queimaduras, trauma cirúrgico e anestésico; portadores de obstrução intestinal, icterícia, e com uso prolongado de NPT, entre outros¹⁶.

Destacam-se, como componentes básicos da barreira mucosa intestinal, os fatores mecânicos, os fatores imunológicos, a microflora normal e o eixo êntero-hepático. (Quadro 1)⁹

Do ponto de vista fisiopatológico, a TB parece ser promovida por um ou mais dos seguintes fatores: a quebra da harmonia da flora bacteriana primitiva intestinal, resultando em um supercrescimento de bactérias – principalmente de bacilos entéricos Gram-negativos; a diminuição das defesas imunológicas e a ruptura física da barreira mucosa intestinal^{12,16}.

Quadro 1 - COMPONENTES DA BARREIRA INTESTINAL⁹1. Mecânicos

- **Peristalse intestinal**
- **Camada de muco**
- **Descamação epitelial**
- **Barreira epitelial**

2. Microflora normal

- **Resistência por colonização**
- **Contato inibitório**

3. Imunológico

- **Secreção de imunoglobulinas (IgA)**
- **Sistema GALT**

4. Outros

- **Eixo êntero-hepático, Sais biliares, Acidez gástrica**

O primeiro componente de defesa da barreira intestinal é a microflora do próprio intestino. As bactérias intestinais anaeróbicas, em números de três a quatro vezes em grandeza logarítmica, isto é, 1000 a 10000 vezes maior do que as bactérias entéricas Gram-negativas, se localizam, preferencialmente, junto às células epiteliais, ocupando os espaços entre essas células e impedindo, assim, por competição, a aderência, aos enterócitos, de bacilos entéricos potencialmente patogênicos. Esse papel das bactérias aneróbicas limitando o crescimento bacteriano e prevenindo a aderência de bactérias à mucosa intestinal, tem sido denominado de “resistência por colonização”^{11,12, 17}.

Outro mecanismo de defesa do intestino é a camada de muco, cujo componente primário é a mucina: glicoproteína de alto peso molecular secretada pelas células caliciformes. Nesse muco é encontrado um certo número de substâncias protetoras das

quais merece destaque a imunoglobulina A secretória (sIgA), produzida pelas células plasmáticas da submucosa^{11,12,18}. Este complexo humoral (muco-sIgA) funciona como uma densa rede que aprisiona os enteropatógenos, facilitando seu clareamento pelos movimentos peristálticos do intestino¹⁹. A peristalse normal do intestino é, portanto, também um importante fator protetor, impedindo a aderência de microorganismos à superfície epitelial. Explica-se, assim, o motivo pelo qual ocorre, na obstrução intestinal, em que os movimentos peristálticos estão diminuídos – ocorrer uma maior possibilidade do surgimento da TB, como comprovado tanto em estudos experimentais, quanto em humanos^{9,12}.

Pôde-se observar, em estudo experimental realizado por Alexander et al²⁰, a importância do muco como fator protetor da mucosa. Utilizando oito ratos e oito porcos, os autores confeccionaram uma enterostomia em alça, cuja extremidade distal era irrigada com solução salina, antes de instilar solução contendo *Candida albicans*, com o intuito de remover o excesso de muco, visando promover uma maior uniformização da TB, já que o muco impediria a aderência de microorganismo à mucosa intestinal²⁰.

Deitch et al, estudando a TB, em modelo animal de obstrução intestinal, observaram que, após a ligadura, a um centímetro proximal ou distal à válvula íleo-cecal, as bactérias translocaram para linfonodos mesentéricos, baço, fígado e sangue periférico²¹.

Tão importante como os componentes descritos anteriormente (físicos e da microflora intestinal) é o sistema imunológico regional, denominado GALT (tecido linfóide associado ao intestino)^{11,12,19}. Esse sistema, composto pelos linfócitos intra-epiteliais e da lâmina própria, pelos folículos linfóides, pelas placas de Peyer, pelas células dendríticas e pelos linfonodos mesentéricos, atua respondendo imunorreativamente a enteropatógenos²².

O eixo êntero-hepático, representado pelas células de Kupfer e secreção de sais biliares na luz intestinal, tem função defensiva na translocação de endotoxinas. As evidências levam a crer que os sais biliares se unem às endotoxinas e atuam como um emulsificante antiendotoxina, diminuindo, assim, a sua absorção no sistema porta, bem como o crescimento excessivo de bacilos entéricos gram-negativos, implicando, por conseguinte, numa diminuição da TB^{23,24}.

As endotoxinas provenientes do intestino têm sido responsáveis pela disfunção hepática e ativação das células de Kupfer, o que levou alguns investigadores a advogarem^{20,25-27} que a TB, em pacientes criticamente doentes, promovem um estímulo para o estágio séptico, na ausência de um foco infeccioso demonstrável – clinicamente ou mesmo em autópsias -, o que explicaria a falência de múltiplos órgãos e sistemas, em até 30% dos pacientes com sepse e que morrem, sem que se consiga demonstrar qualquer foco de origem²⁸⁻³⁰. O intestino agiria, portanto, como um motor da falência múltipla orgânica^{25,31}.

Experimentalmente, as conseqüências clínicas, bem como a gravidade resultante da TB, parecem ser proporcionais não só ao número de condições que contribuem para a perda da função da barreira intestinal, mas também à magnitude de cada insulto.

Sem dúvida, um desses insultos que mais tem sido estudado é a correlação do trauma com o aparecimento de TB. Deitch et al, em 1996, apontaram que a sepse é a mais comum causa de morte - nas primeiras 48 horas – entre os pacientes que sobrevivem a um trauma severo³². No entanto, Baker, em 1988, já demonstrava, experimentalmente, o efeito do choque hemorrágico em ratos, que eram submetidos ao cateterismo da artéria femoral e à aspiração sangüínea até obter-se pressão arterial média de 30 mmHg. Nesses animais, a

incidência de hemoculturas positivas foi de 33%, enquanto no grupo controle não foi evidenciado crescimento bacteriano³³.

Outra linha de investigação busca correlacionar a desnutrição com a TB. Sabe-se que a desnutrição ocasiona uma menor efetividade do sistema imune do paciente, promovendo a quebra da ecologia normal da microflora intestinal, além de conduzir a uma atrofia da mucosa intestinal. Há, portanto, inúmeras razões para se acreditar que a nutrição seja um importante modulador da função da barreira da mucosa intestinal e, por conseguinte, da TB³⁴⁻⁴⁴.

Kudsk et al, em 1992, constataram que os animais sépticos, quando alimentados por via enteral, tinham uma sobrevida maior do que aqueles alimentados por via parenteral. Os mesmos autores, dessa vez estudando 98 pacientes politraumatizados, os quais eram randomizados para uso de NPT e enteral - oferecidas 24 horas após a injúria do trauma - observaram maior incidência de complicações do tipo: pneumonia, abscessos intra-abdominal e sepse, nos pacientes em regime de NPT⁴⁵.

A meta-análise realizada por Morre et al, em 1992, avaliando o uso - no pós-operatório imediato - de NPT e dieta enteral, vem sustentar o conceito de que a nutrição enteral precoce exerce efeitos benéficos tais como: a manutenção da barreira da mucosa intestinal, evitando a sua atrofia; a atenuação do estresse (resposta metabólica ao trauma); a preservação da flora bacteriana intestinal, diminuindo, assim, a TB e a sepse em até 50% dos pacientes³⁶.

Observa-se um aumento de complicações sépticas em pacientes que são submetidos a regimes de NPT, quando comparados aos que utilizam a nutrição enteral, pois a ausência de nutrientes intraluminais causa disfunção no enterócito, bem como atrofia da mucosa intestinal, desencadeando, dessa forma, a TB^{5,6}.

A colite de derivação (CD) é uma entidade nosológica relativamente freqüente, que ocorre em quase 100% dos pacientes submetidos a uma colostomia desfuncionalizante. Caracteriza-se pelo aparecimento no cólon distal e reto desfuncionalizados, em pacientes sem história de doença inflamatória intestinal preexistente. Não há envolvimento do cólon proximal acima do sítio da colostomia, e a resolução do processo se dá quando é feita a reconstrução do trânsito intestinal^{7,8}.

Várias são as hipóteses postuladas para explicar o desenvolvimento da CD, no entanto, merecem destaque: o supercrescimento bacteriano da flora colônica autóctone, a invasão do segmento excluído por organismos patogênicos e, principalmente, a deficiência nutricional do epitélio colônico causada pela ausência de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que promove um distúrbio na relação simbiótica entre a microflora intestinal e a mucosa colônica^{7,8}.

Sabe-se que os AGCC são produzidos no cólon pela fermentação dos polissacarídeos não reabsorvidos pelas bactérias anaeróbicas, sendo o mais importante fator energético para o epitélio colônico. A sua deficiência (dos AGCC), todavia, é capaz, não só de modificar o metabolismo dos colonócitos, diminuindo a vida média das células das criptas colônicas e a espessura da mucosa intestinal do cólon, como também de alterar a permeabilidade da barreira da mucosa das células epiteliais⁴⁶⁻⁴⁸.

Presume-se que as mudanças freqüentes na morfologia ou na permeabilidade intestinal refletem, também, em alterações na barreira intestinal, podendo, portanto, conduzir a um aumento da TB. Há evidências que mantêm essa suposição, em estudos humanos, tendo em vista a alta incidência de complicações sépticas em pacientes que recebem NPT – pela ausência de nutrientes intraluminais – devido à atrofia da mucosa e disfunção do enterócito e colonócito³⁴⁻³⁶.

Diante de tais evidencias, o presente trabalho teve por objetivo estudar, em animal de experimentação (ratos), a hipótese segundo a qual as alterações evidenciadas na colite de derivação seriam capazes, ou não, de facilitar a passagem de bactérias pela mucosa intestinal atrofiada, conduzindo ao processo de TB.

MÉTODO

Para realização do presente estudo foram utilizados 62 ratos Wistar, machos, pesando entre 220 e 320 gramas, provenientes do biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental Prof. Travassos Sarinho, do Departamento de Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório da Disciplina de Técnica Operatória da UFRN.

O estudo foi prospectivo, analítico do tipo intervenção.

Durante o período do estudo, os animais foram mantidos em condições ambientais adequadas: ambiente climatizado, com controle de partículas, gaiolas individuais; com ciclo dia/noite de 12 horas e alimentados com ração padrão para ratos e água *ad libitum*.

Foram estritamente observados os princípios de bioética previstos pelo *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Institutes of Health*, sendo o protocolo experimental aprovado pela comissão de ética do Centro de Ciências da Saúde.

Houve ainda a colaboração científica do Laboratório de Bioquímica do Centro de Biociências da UFRN, como também do Laboratório de Microbiologia do Centro de Patologia Clínica de Natal.

3.1 —DELINEAMENTO DO ESTUDO

Os animais foram divididos em dois grupos: A e B, cada um com 31 animais. Tanto o grupo A - denominado de grupo com colostomia ou experimental - quanto o grupo B (controle) foram subdivididos em quatro subgrupos:

➤ **Subgrupo A1 (colostomia + Inoculação de solução salina 0,9%)**

Neste grupo, contendo cinco ratos, os animais foram submetidos à colostomia pela técnica que será descrita adiante. No 70^o dia de pós-operatório (DPO), 02ml de uma solução salina

0,9% era injetada – por via retal – nos animais, os quais, no dia seguinte, eram mortos, para retirada das amostras de sangue e dos diversos tecidos para estudo bacteriológico.

➤ **Subgrupo A2 (colostomia + Inoculação bacteriana na concentração de 10^8)**

Neste grupo, contendo oito ratos, no 70^o DPO, após a realização da colostomia desfuncionalizante, os animais eram submetidos à inoculação - por via retal – de uma solução de 02ml contendo *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), na concentração de 10^8 UFC/ml (Unidade formadora de colônias por mililitro). No dia seguinte, os animais foram mortos, para retirada das amostras de sangue e dos diversos tecidos para estudo bacteriológico.

➤ **Subgrupo A3 (colostomia + Inoculação bacteriana na concentração de 10^{11})**

Os animais deste grupo, em número de dez ratos, foram submetidos aos mesmos procedimentos do subgrupo A2, porém a concentração bacteriana inoculada de *Escherichia coli* - por via retal - no 70^o DPO foi de 10^{11} UFC/ml.

➤ **Subgrupo A4 (colostomia + Análise do muco)**

Os oitos animais, que compunham esse grupo, foram mortos no 70^o DPO, sendo colhido o muco encontrado no segmento colônico distal desfuncionalizado, para dosagens de açúcares neutros e proteínas totais.

➤ **Subgrupos B1 a B4**

Nos animais do grupo B (controle) não foi realizada a colostomia nos ratos, no entanto, todos os outros eventos realizados no grupo A foram repetidos.

O seguinte quadro sumariza cada subgrupo:

Quadro 2 - Distribuição dos subgrupos

Subgrupo	Característica
A1 – 05 ratos	(colostomia + solução salina 0,9%)
A2 – 08 ratos	(colostomia + E.coli 10 ⁸)
A3 – 10 ratos	(colostomia + E. coli 10 ¹¹)
A4 – 08 ratos	(colostomia + Análise do muco)
B1 – 05 ratos	(sem colostomia + solução salina 0,9%)
B2 – 08 ratos	(sem colostomia + E.coli 10 ⁸)
B3 – 10 ratos	(sem colostomia + E. coli 10 ¹¹)
B4 – 08 ratos	(sem colostomia + Análise do muco)

3.2 – PREPARO DA SUSPENSÃO DE *Escherichia coli*

No presente estudo foi utilizada *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), cultivada em caldo de peptona e levedura até o final da fase exponencial de crescimento em 16 horas, no Centro de Patologia Clínica de Natal. No final desse prazo, as bactérias foram lavadas em solução fisiológica tamponada (pH 7,2), por três vezes, a 1700rpm, durante 10 minutos. Suspenderam-se os bacilos novamente, na mesma solução tamponada por fosfato, sendo ajustadas as concentrações - por espectrofotometria – em 10⁸ e 10¹¹UFC/ml²⁹.

3.3 – TÉCNICA OPERATÓRIA

Todos os animais do grupo A (experimental), foram mantidos em jejum por um período de 12 horas antes do procedimento cirúrgico, com uso de água apenas.

Após anestesia inalatória com éter, os animais foram submetidos a uma lavagem intestinal, com solução salina 0.9%, por via retal, com o objetivo de retirar todo material

fecal do conteúdo colônico. A seguir, foram pesados, fixados à mesa cirúrgica em decúbito dorsal, sendo feita a tricotomia do abdome e antissepsia com solução tópica de polivinilpirrolidona-iodo (PVPI), mais a colocação de campos operatórios esterilizados. Procedia-se, então, a realização de uma laparotomia mediana, de aproximadamente 04 cm, para identificação do cólon ascendente. A cerca de 02cm da válvula íleo-cecal, o cólon era seccionado, sendo os segmentos proximal e distal fechados, previamente, através de ligadura com fio de algodão 2-0.

O segmento colônico distal foi mantido dentro da cavidade abdominal e o proximal era exteriorizado, através da parede abdominal à esquerda da incisão mediana, sendo feita a maturação precoce da colostomia com pontos simples, de fio polipropileno 5-0, realizando, assim, uma colostomia terminal com boca única. A cavidade abdominal - que era mantida irrigada com solução salina durante todo o ato operatório, para evitar o ressecamento das alças intestinais – foi fechada por planos, em pontos separados, com fio de mononylon 4-0.

Os animais foram observados em gaiolas individuais, no pós-operatório, sendo oferecidas ração e água *ad libitum*.

No 70^o DPO, os animais dos subgrupos A1, A2 e A3 foram novamente anestesiados com éter, para realizar, por via retal, a injeção de 02ml de solução salina (subgrupo A1) ou a inoculação, de 02ml de solução contendo *Escherichia coli*, ATCC 25922, nas seguintes concentrações de 10⁸ e 10¹¹ (subgrupos A2 e A3, respectivamente).

No dia seguinte a inoculação bacteriana, os animais foram mortos, com superdosagem de éter, para coleta das amostras de sangue e tecidos para estudo microbiológico.

Os animais do subgrupo A4 foram mortos no 70^o DPO, onde foi colhido o muco do intestino desfuncionalizado, para análise de açúcares neutros e proteínas totais.

3.4 – COLETA DAS AMOSTRAS

Todos os animais dos subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 e B3, logo no dia seguinte, à injeção de solução salina (subgrupos A1 e B1) ou à inoculação da suspensão de *escherichia coli* (subgrupos A2, A3, B2 e B3), foram mortos com superdosagem de éter, por via inalatória. A seguir, procedeu-se a antissepsia com PVPI, colocação de campos esterilizados e a abertura das cavidades abdominal e torácica. Realizou-se a punção cardíaca para coleta de 02ml de sangue que era acondicionado em frasco de hemocultura Bactec (Becton Dickinson, Maryland – USA). Em seguida foi feita a retirada de fragmentos das amostras de tecidos, obedecendo a seguinte ordem: primeiro retirou-se o linfonodo do mesocólon do segmento intestinal desfuncionalizado (subgrupos A1, A2 e A3) ou do cólon descendente (subgrupos B1, B2 e B3) e, a partir daí, foram retirados um fragmento do lobo esquerdo hepático, do baço, pólo inferior do rim esquerdo e um fragmento do lobo inferior do pulmão esquerdo.

Foram utilizados sempre, jogos separados de pinça e tesoura para cada amostra de órgão retirado e os fragmentos foram acondicionados em tubos estéreis contendo 01ml de solução salina. Procedeu-se, em seguida, a pesagem dos mesmos em balança eletrônica. O peso da amostra era dado pela diferença entre os dois pesos: tubo com amostra e tubo isoladamente.

3.5 – COLETA DO MUCO

Os animais dos subgrupos A4 e B4 foram mortos com superdosagem de éter sufúrico e, logo após, submetidos à retirada do cólon desfuncionalizado (subgrupo A4) e cólon descendente (subgrupo B4). Em seguida, foi feita a abertura, no sentido longitudinal, dos mesmos e com auxílio de uma espátula, procedeu-se a retirada do muco intestinal -

sendo acondicionado em frasco de Eppendorf, contendo solução de PBS (tampão fosfato pH 7,4).

3.6 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As amostras (fragmentos) de linfonodo, pulmão, fígado, baço e rim - dos animais dos subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 e B3 - foram trituradas em um gral de porcelana, até atingir uma emulsão homogênea, com quantidade suficiente para completar o volume de 02ml em solução de cloreto de sódio, sob fluxo laminar. Posteriormente, as amostras foram semeadas, em alíquotas de 0,1ml: em placas de Petri, contendo meio de cultura ágar Mac Conkey – meio seletivo para bacilos gram-negativos. Após a semeadura, as amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 37⁰C por 48 horas. Completado esse tempo, foi feita a contagem de colônias em cada placa, cujas características: colônias vermelhas e rosadas - evidenciavam a presença de *Escherichia coli* para esse meio (ágar-Mac Conkey). Foram consideradas positivas as amostras que já apresentavam 01 UFC. Os animais em que havia suspeita de contaminação externa da amostra foram substituídos automaticamente.

A identificação fenotípica da bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection), foi realizada pelo sistema automatizado de bacteriologia Vitelí bioMérieux (esse sistema permite não só a identificação de mais de 200 espécies bacterianas diferentes, através de 30 provas bioquímicas, mas também, a identificação de cepas controle - ATCC, pois no seu programa, as reações bioquímicas dessas cepas encontram-se catalogadas: lactose +, glicose +, produtora de gás +, lisina +, indol +, ornitina +, mobilidade +, citrato – e raminose +).

As amostras de sangue coletadas nesses animais, para realização das hemoculturas, foram inoculadas no sistema de hemocultura HEMOCULT I e incubadas em estufa

bacteriológica a 37⁰C por 24 horas. Diariamente, eram inspecionadas para verificar a existência ou não de crescimento bacteriano.

3.7 – ANÁLISE DE AÇÚCARES NEUTROS E PROTEÍNAS TOTAIS DO MUCO

Para análise da concentração de açúcares neutros do muco intestinal – segundo o método proposto por Yemm e Willis⁴⁹ - foram utilizados 10 *microlitros* da amostra, adicionados a 500 *microlitros* de água e 2,5ml de antrona (reagente). Logo em seguida, agitava-se o tubo de ensaio e tampava-se com papel alumínio. A solução era aquecida a 100⁰C durante 15 minutos. Esperava-se 10 minutos, tempo suficiente para esfriar a solução e se fazer a leitura no fotolorímetro a 620nm.

A dosagem de proteínas do muco intestinal foi realizada pelo ensaio do ácido bicinrônico (BCA), segundo método descrito por Smith⁵⁰, em 1985.

3.9 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na estatística descritiva foram diversos os aspectos avaliados, entre os quais pode-se destacar: o peso (em gramas) do fragmento de alguns órgãos e tecidos de pulmão, fígado, baço, rim e linfonodo, dos animais; os aspectos relacionados à concentração média de UFC dos órgãos e tecidos; o percentual de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos; a incidência de translocação bacteriana por subgrupos; a concentração de açúcares neutros e de proteínas totais considerando-se a análise do muco colônico. Diante da natureza das observações em estudo, os Teste de Mann-Whitney e de análise de variância (ANOVA) foram aplicados como técnica investigativa para o tratamento estatístico das observações. Utilizou-se o software Statistics versão 5.0, aceitando-se um nível de significância de 5% (p<0,05).

RESULTADOS

Seis animais foram substituídos, sem haver prejuízo para pesquisa; quatro por apresentarem suspeita de contaminação externa, sendo constatada a presença da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*; dois porque morreram durante o experimento devido à obstrução intestinal, em decorrência de estenose da colostomia.

Com relação ao peso dos fragmentos dos diversos órgãos, observou-se que essa variável não influenciou os resultados, conforme pode ser constatado a seguir:

Tabela 1 – Pesos (em gramas) do Fragmento de PULMÃO dos Ratos do Grupo A.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança a 95%		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
A1	0,20	0,17	0,24	0,21	0,17	0,24	0,03
A2	0,22	0,19	0,24	0,22	0,18	0,26	0,03
A3	0,21	0,17	0,24	0,20	0,13	0,27	0,05

Fonte: Dados Primários.

Tabela 2 – Pesos (em gramas) do Fragmento de FÍGADO dos Ratos do Grupo A.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
A1	0,23	0,15	0,31	0,21	0,17	0,32	0,06
A2	0,24	0,20	0,28	0,25	0,17	0,30	0,05
A3	0,24	0,20	0,28	0,23	0,19	0,35	0,05

Fonte: Dados Primários

Tabela 3 – Pesos (em gramas) do Fragmento de BAÇO dos Ratos do Grupo A.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
A1	0,21	0,12	0,30	0,19	0,12	0,33	0,08
A2	0,28	0,22	0,34	0,27	0,19	0,39	0,07
A3	0,29	0,25	0,32	0,29	0,19	0,36	0,05

Fonte: Dados Primários.

Tabela 4 – Pesos (em gramas) do Fragmento de RIM dos Ratos do Grupo A.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
A1	0,55	0,47	0,63	0,55	0,47	0,63	0,06
A2	0,58	0,49	0,66	0,55	0,47	0,79	0,10
A3	0,62	0,53	0,70	0,60	0,44	0,79	0,12

Fonte: Dados Primários.

Tabela 5 – Pesos (em gramas) do Fragmento de LINFONODO dos Ratos do Grupo A.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
A1	0,10	0,07	0,13	0,09	0,07	0,13	0,02
A2	0,12	0,10	0,13	0,12	0,10	0,14	0,02
A3	0,11	0,10	0,12	0,11	0,08	0,12	0,01

Fonte: Dados Primários.

Tabela 6 – Pesos (em gramas) do Fragmento de PULMÃO dos Ratos do Grupo B.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
B1	0,20	0,16	0,24	0,19	0,18	0,26	0,03
B2	0,20	0,18	0,22	0,20	0,17	0,25	0,03
B3	0,21	0,20	0,23	0,21	0,19	0,24	0,02

Fonte: Dados Primários.

Tabela 7 – Pesos (em gramas) do Fragmento de FÍGADO dos Ratos do Grupo B.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
B1	0,20	0,17	0,22	0,20	0,17	0,23	0,02
B2	0,21	0,20	0,23	0,21	0,19	0,23	0,02
B3	0,24	0,22	0,26	0,25	0,18	0,28	0,03

Fonte: Dados Primários.

Tabela 8 – Pesos (em gramas) do Fragmento de BAÇO dos Ratos do Grupo B.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
B1	0,20	0,15	0,26	0,20	0,16	0,27	0,04
B2	0,24	0,20	0,27	0,24	0,18	0,29	0,04
B3	0,27	0,23	0,31	0,27	0,19	0,38	0,06

Fonte: Dados Primários.

Tabela 9 – Pesos (em gramas) do Fragmento de RIM dos Ratos do Grupo B.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
B1	0,49	0,44	0,54	0,49	0,45	0,56	0,04
B2	0,59	0,53	0,66	0,59	0,46	0,71	0,08
B3	0,62	0,58	0,65	0,63	0,52	0,68	0,05

Fonte: Dados Primários.

Tabela 10 – Pesos (em gramas) do Fragmento de LINFONODO dos Ratos do Grupo B.

Grupos	Estatística Descritiva						
	Média	Intervalo de Confiança		Mediana	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desvio Padrão
		LI	LS				
B1	0,08	0,07	0,10	0,09	0,07	0,10	0,01
B2	0,10	0,08	0,11	0,10	0,07	0,12	0,02
B3	0,10	0,09	0,11	0,10	0,07	0,13	0,02

Fonte: Dados Primários.

Os resultados obtidos, portanto, através da realização dos testes de hipóteses não-paramétricos (teste de Mann-Whitney) permitem concluir que a variável “peso (em g) dos fragmentos” não exerceu diferença significativa no que se refere aos tipos de tratamento ($P > 0,05$). Esse fato conduz à seguinte constatação: a coleta dos pesos (em g) dos fragmentos dos órgãos e tecidos analisados foi executada de forma precisa e adequada.

4.1 -Translocação bacteriana por subgrupos

Tabela 11 – Frequência de translocação bacteriana (TB) por subgrupos.

Grupos	TB/Total	Frequência Percentual
A1	0/5	0,0
A2	0/8	0,0
A3	2/10	20,0
B1	0/5	0,0
B2	0/8	0,0
B3	8/10	80,0
Total		100

Fonte: Dados Primários.

Análise: A frequência de translocação bacteriana foi registrada apenas nos animais submetidos à inoculação de *E. coli* na concentração de 10^{11} (subgrupos A3 e B3). Sob esse aspecto, observa-se que 80% dos animais que não foram submetidos à colostomia apresentaram translocação bacteriana, enquanto que, diante das cobaias submetidas a colostomia, esse registro passou a ser de 20% dos animais analisados.

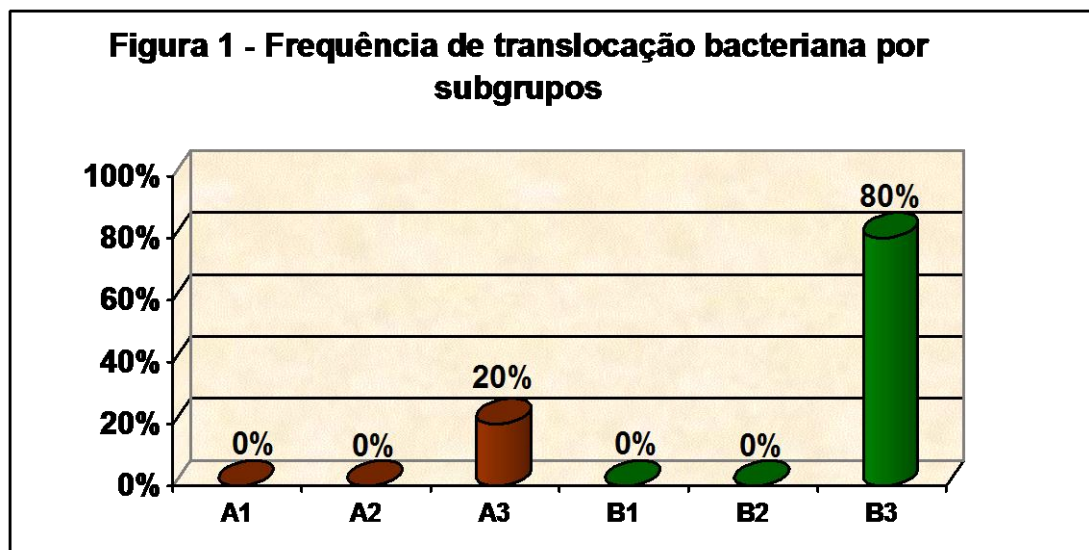
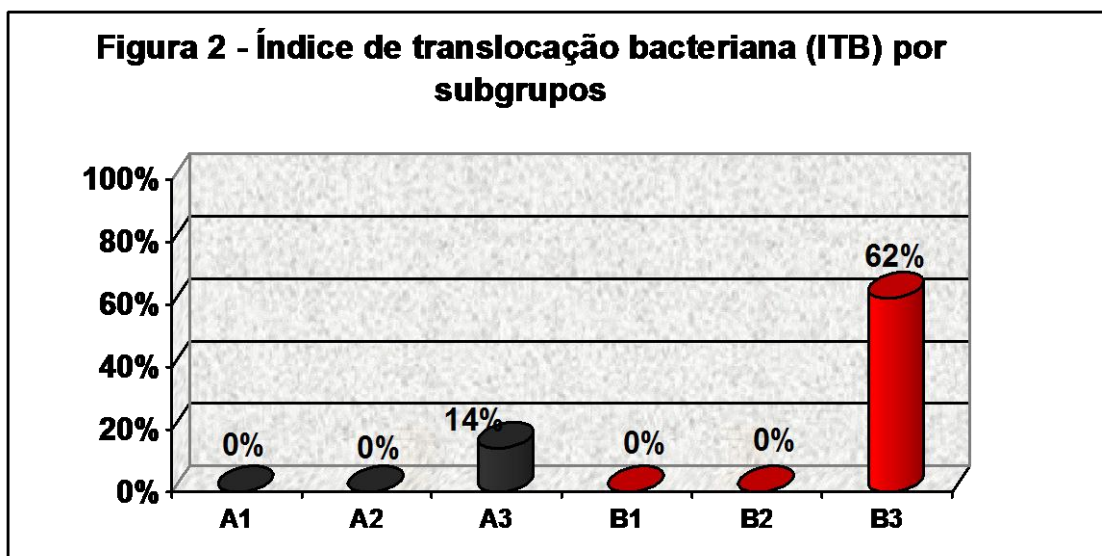


Tabela 12 – Índice de translocação bacteriana (ITB) por Subgrupos.

Grupos	ITB/Total	Frequência Percentual
A1	0/25	0,0
A2	0/40	0,0
A3	7/50	14,0
B1	0/25	0,0
B2	0/40	0,0
B3	31/50	62,0

Fonte: Dados Primários.

Análise: o índice de translocação bacteriana (ITB) refere-se ao número de órgãos com cultura positiva dividido pelo número total de órgãos avaliados. Sendo, portanto, uma representação mais adequada para a avaliação do fenômeno da TB. De modo similar ao fato observado anteriormente o índice de translocação bacteriana por grupos é registrada apenas nos animais submetidos à dosagem de *E. coli* 10¹¹.



4.2 - Percentual de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos dos animais segundo os grupos observados

Tabela 13 – Percentual de Recuperação Bacteriana dos Órgãos e Tecidos Analisados dos Animais dos subgrupos A3 e B3.

Órgãos	Grupos	
	A3	B3
Pulmão	20%	80%
Baço	10%	40%
Fígado	20%	80%
Rim	0%	40%
Linfonodo	20%	70%

Fonte: Dados Primários

Análise: No que se refere à recuperação bacteriana, os registros obtidos permitem verificar que os animais que não foram submetidos a colostomia apresentaram, de forma nítida, maior percentual de recuperação bacteriana nos órgãos e tecidos analisados. Como pode ser visto na tabela acima, todos os órgãos e tecidos analisados mostram diferenças estatisticamente significante entre os grupos A3 e B3 ($p < 0,05$; Anova). O percentual de recuperação bacteriana do rim é observado na totalidade, apenas nas cobaias submetidas a *E. coli* 10^{11} sem colostomia (subgrupo B3). Nos animais submetidos a colostomia não houve indício de recuperação bacteriana nesse órgão.

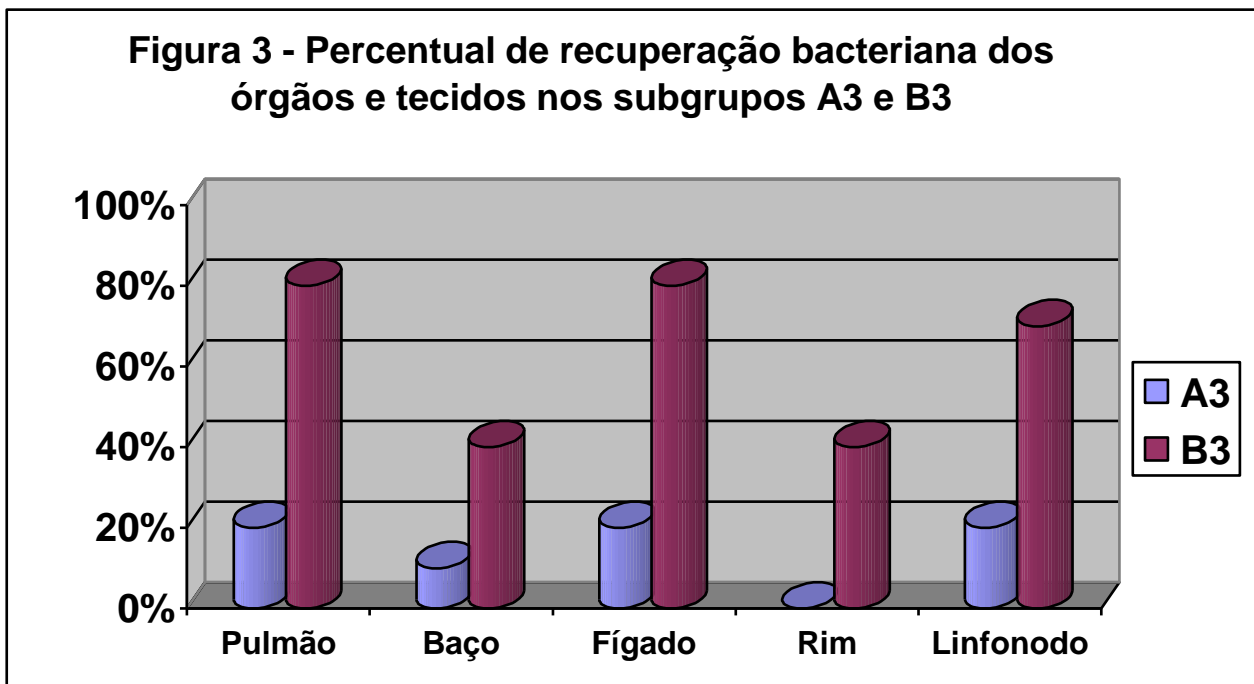
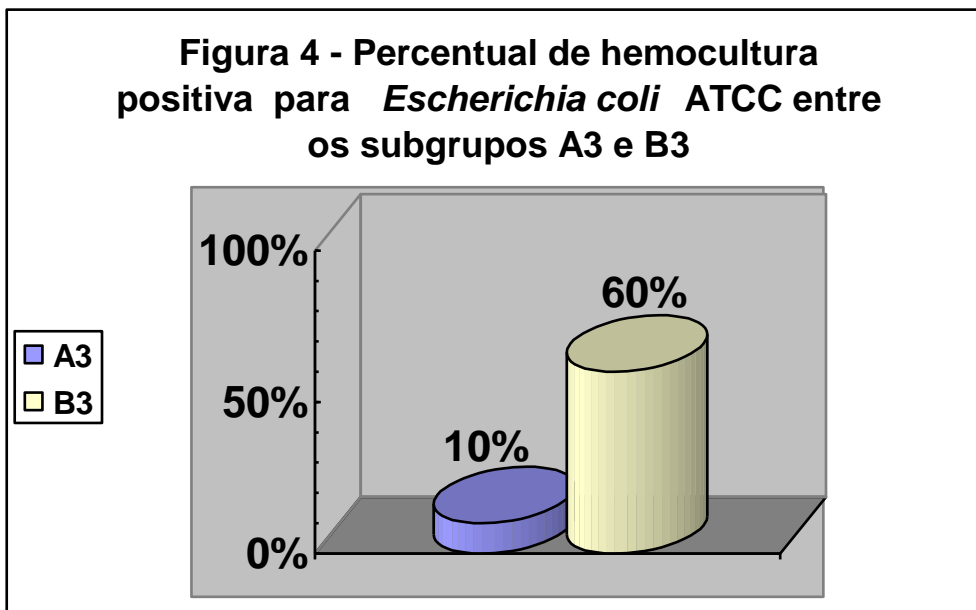


Tabela 14 – Percentual de Hemocultura Positiva para a *Escherichia coli* ATCC dos Animais dos subgrupos A3 e B3.

Grupo	Frequência Percentual
A3	10%
B3	60%

Fonte: Dados Primários

Análise: Os registros observados indicam que entre os animais que não foram submetidos a colostomia, mas que foram tratados com *E. coli* 10¹¹ (subgrupo B3), apresentaram percentual de hemocultura positiva equivalente a 60%, ao passo que, para os animais submetidos à colostomia e tratados sob a mesma condição esse percentual de hemocultura positiva é de apenas 10%.



4.3 - Concentração média de UFC dos órgãos analisados dos animais segundo os grupos observados

➔ PULMÃO

Tabela 15 – Concentração Média de UFC do Pulmão entre os subgrupos A3 e B3.

Grupos	Média de UFC	Frequência Percentual
A3	3,10	7,58
B3	37,80	92,42
Total	40,90	100

Fonte: Dados Primários

➔ FÍGADO

Tabela 16 – Concentração média de UFC do Fígado entre os subgrupos A3 e B3.

Grupos	Média de UFC	Frequência Percentual
A3	1,70	4,61
B3	35,20	95,39
Total	36,90	100

Fonte: Dados Primários

Figura 5 - Concentração média de UFC do Pulmão entre os subgrupos A3 e B3

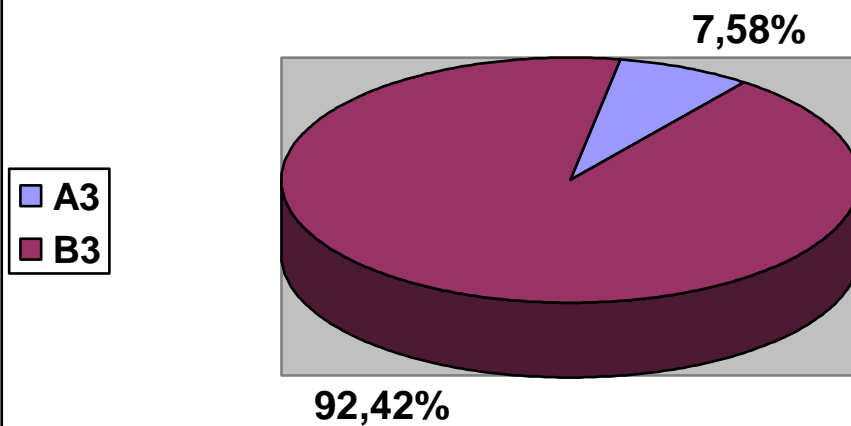
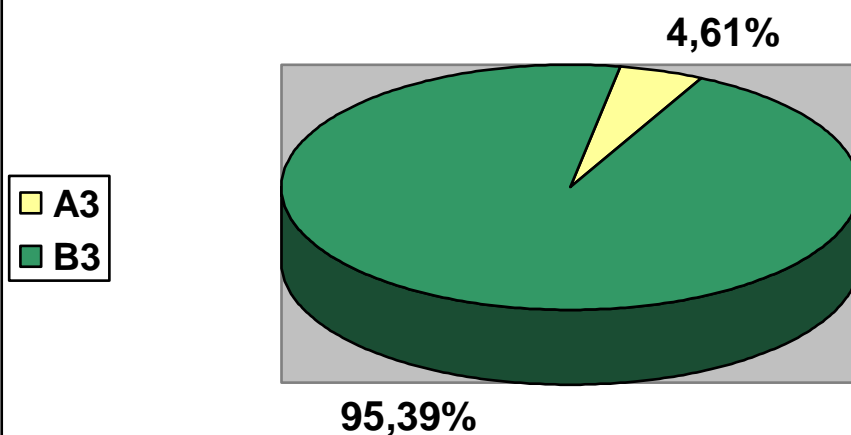


Figura 6 - Concentração média de UFC do Fígado entre os subgrupos A3 e B3

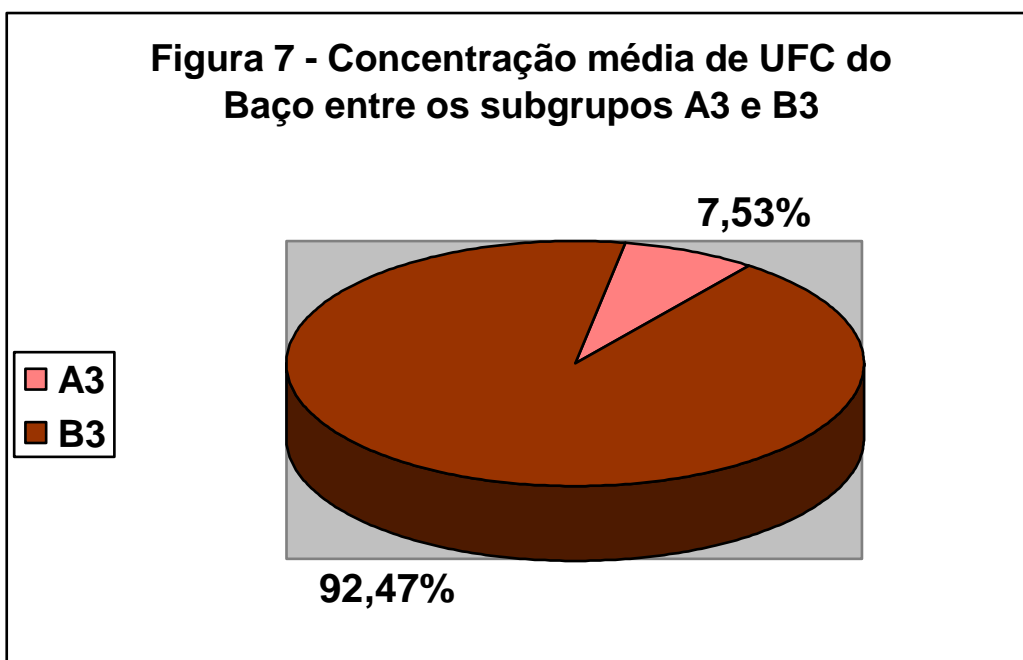


➔ **BAÇO**

Tabela 17 – Concentração média de UFC do Baço entre os subgrupos A3 e B3.

Grupos	Média de UFC	Frequência Percentual
A3	0,55	7,53
B3	6,75	92,47
Total	7,30	100

Fonte: Dados Primários



➔ **RIM**

Tabela 18 – Concentração média de UFC do Rim entre os subgrupos A3 e B3.

Grupos	Média de UFC	Frequência Percentual
A3	0,00	0
B3	2,85	100
Total	2,85	100

Fonte: Dados Primários

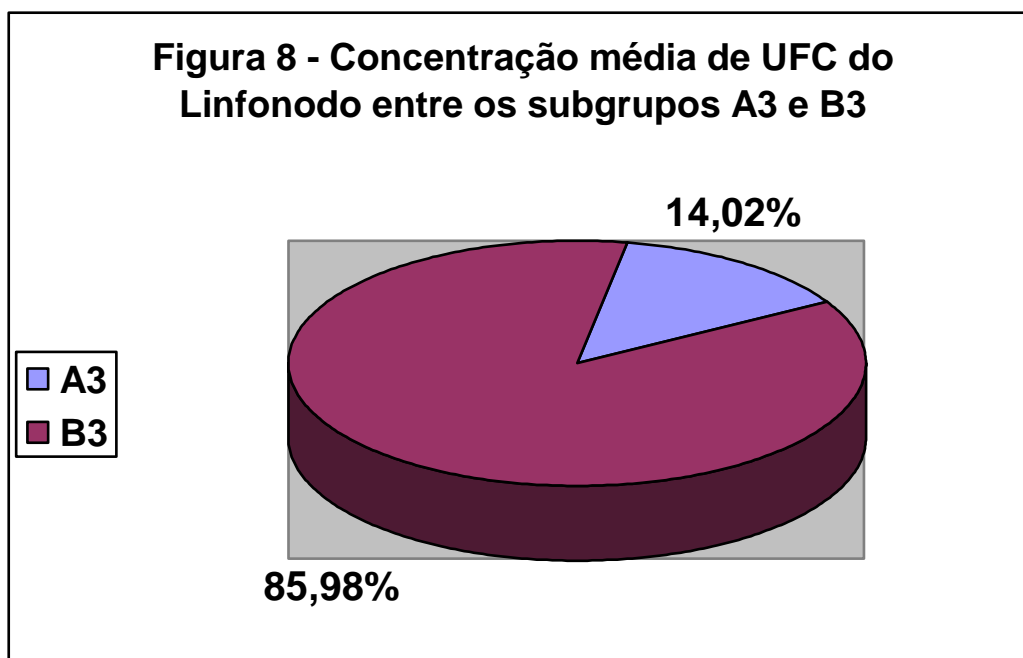
Análise: Sob o ponto de vista estatístico verifica-se que a concentração média de UFC do rim dos ratos amostrados foi verificada na totalidade, 100% dos dados, apenas nos animais que não foram submetidos à colostomia e que receberam *E. coli* 10¹¹. Nos animais submetidos à colostomia e ao tratamento identificado anteriormente não houve indícios da existência de UFC.

➔ **LINFONODO**

Tabela 19 – Concentração média de UFC do Linfonodo entre os subgrupos A3 e B3.

Grupos	Média de UFC	Frequência Percentual
A3	3,00	14,02
B3	18,40	85,98
Total	21,40	100

Fonte: Dados Primários



Utilizando-se do teste de variância (ANOVA), para o segundo fator, tipo de tratamento (A3 e B3), temos o $P < 0,05$, portanto, rejeita-se H_0 , concluindo-se, com risco de 5%, que a submissão dos animais ao processo de colostomia, considerando *E. coli* 10^{11} , exerce influência significativa na concentração média de UFC dos órgãos e tecidos analisados.

A extração dessa conclusão permite, a partir dos resultados observados, constatar que a concentração média de UFC é maior nos órgãos e tecidos dos animais que não foram submetidos ao processo de colostomia (subgrupo B3).

4.4 - Concentração de açúcares neutros e proteínas totais do muco

Tabela 20 – Concentração de Açúcares neutros no Subgrupo A4.

Ratos	Concentração (em mg/ml)	
	A4	B4
01	29,8	9,9
02	28,5	9,5
03	29,8	8,3
04	22,5	6,2
05	25,2	10,6
06	26,5	10,4
07	25,2	6,2
08	30,6	6,2
Média	27,2	8,4
Desvio padrão	2,70	1,95

Fonte: Dados Primários.

Análise: Através dos registros obtidos é possível constatar que houve maior concentração de açúcares neutros no muco dos animais que foram submetidos à colostomia. Os dados avaliados, pelo teste de Mann-Whitney, indicam uma diferença significativa, entre os subgrupos A4 e B4 ($P < 0,05$).

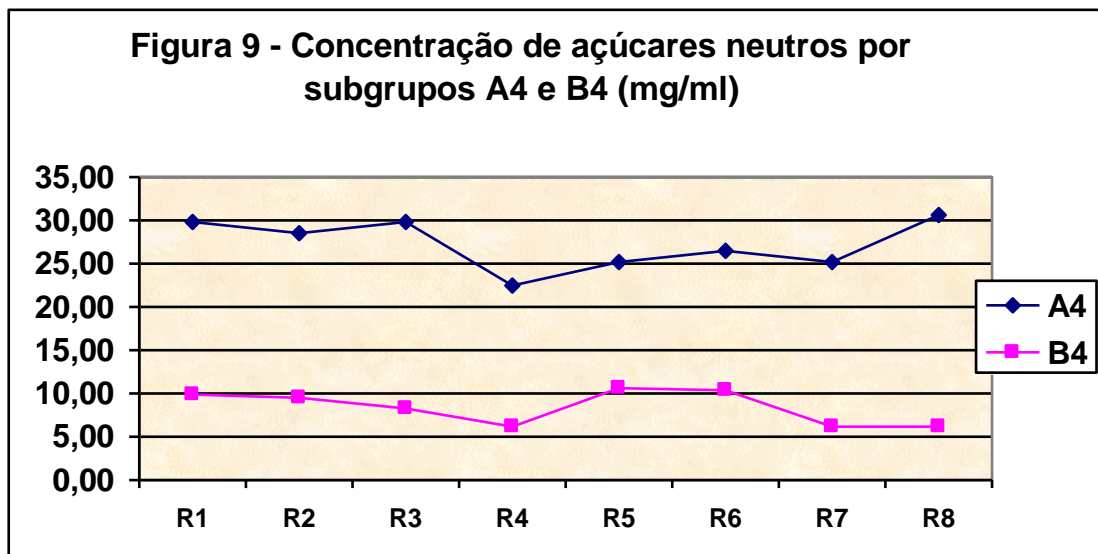
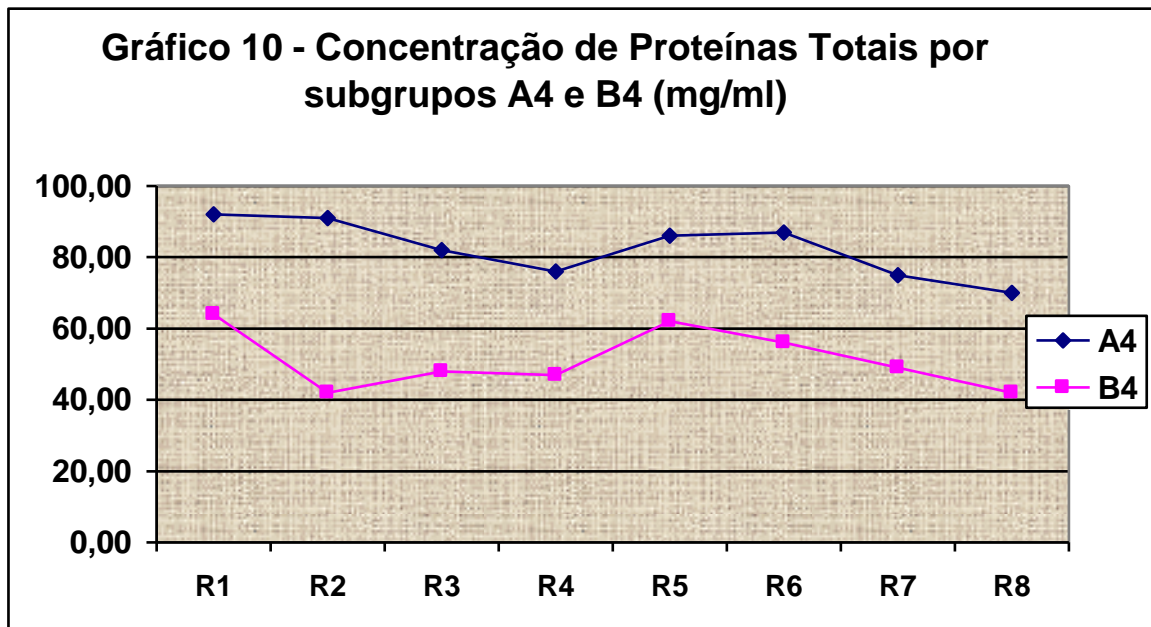


Tabela 21 – Concentração de Proteínas Totais por Subgrupos (A4 e B4).

Ratos	Concentração (em mg/ml)	
	A4	B4
01	92	64
02	91	42
03	82	48
04	76	47
05	86	62
06	87	56
07	75	49
08	70	42
Média	82,4	51,3
Desvio padrão	8,0	8,4

Fonte: Dados Primários.

Análise: Conclusão semelhante à extraída conforme registros observados anteriormente (açúcares neutros) pode ser constatada, também, no que se refere à quantidade de proteínas totais. Através dos registros obtidos é possível verificar que houve maior concentração de proteínas totais no muco dos animais, que foram submetidos a colostomia. Os dados analisados, pelo teste de Mann-Whitney, indicam uma diferença significativa entre os subgrupos A4 e B4 ($P < 0,05$).



DISCUSSÃO

5.1- RELEVÂNCIA DO TEMA

Apesar dos grandes avanços em todas as áreas da cirurgia, o controle da infecção continua sendo um desafio. De 593.344 operações realizadas nos Estados Unidos da América, entre 1986 e 1996, cerca de 15.525, ou seja, 3%, foram seguidas de infecção. Dos 551 pacientes infectados que morreram, 77% das mortes foram provocadas por infecções graves que promoveram a falência múltipla de órgãos e sistemas (FMO)⁵¹.

Levando-se em conta, também, o custo do tratamento da infecção cirúrgica – fator de relevância para uma região carente de recursos como a região Nordeste do Brasil – têm-se, assim, mais um fator preocupante para o controle da infecção. Aliás, esse controle da infecção constitui, hoje, um parâmetro de qualidade do serviço prestado por um hospital. Por exemplo, o custo efetivo para o tratamento da infecção da ferida operatória no hospital das clínicas da UFPE foi de US\$ 1400,00 para uma cirurgia de colecistectomia, US\$ 500,00 para uma cesárea e US\$ 1100,00 para uma gastrectomia total⁵². Diante desses dados, pode-se ter uma noção do custo total para o tratamento de um paciente com FMO.

Desde que foi reconhecida, a FMO tem sido uma das causas freqüentes de mortalidade em pacientes cirúrgicos internados, principalmente, em Unidade de terapia Intensiva (UTI)¹². Uma variedade de insultos que vão desde: traumas, ressecções hepáticas, pancreatite, até o choque, são responsáveis pelo surgimento da FMO que, uma vez instalada, nem sempre o tratamento do fator desencadeante promoverá a reversão do quadro¹².

A partir de várias observações^{1,3,16,25,26,28,30,31}, acredita-se que a resposta inflamatória tem relevante papel na fisiologia da FMO e que os próprios mediadores endógenos do hospedeiro contribuem mais que os fatores exógenos.

Pelo fato de não ser encontrado nenhum foco séptico – nem clinicamente, nem através de necropsias –, em 30% dos pacientes falecidos pela FMO¹⁵, deduz-se que o intestino possa ser o reservatório para bacteriemia, endotoxemia, ou ambas, nos pacientes criticamente doentes. Em função disso, foram criados os termos “estágio séptico intestinal”²⁵ e “motor da FMO”³¹.

A TB, portanto, serviria como um gatilho para iniciar ou perpetuar o estado séptico^{15,53}, podendo explicar essa situação paradoxal, em que bactérias entéricas são encontradas, e sobrevivem em órgãos ou tecidos normalmente estéreis^{15,29,54,55}, sem que um foco infeccioso seja identificado em pacientes que morrem de FMO.

Em algumas meta-análises^{56,57}, observa-se que a frequência de infecção do trato respiratório em pacientes internados em UTI - que não foram submetidos a tratamento cirúrgico – diminui significativamente quando é realizada a descontaminação seletiva com antimicrobianos do trato gastro-intestinal (TGI), sem alterar, no entanto, a taxa de mortalidade.

Nos últimos anos, tem havido um aumento importante de publicações, enfocando a TB^{11,12,16,18,20,22,29,32,40,42,43,53}. Os modelos experimentais em animais, principalmente, por serem uma potente arma no estudo da patogenia de doenças e na pesquisa de novas técnicas terapêuticas – para combatê-las ou mesmo preveni-las – são os meios de investigação mais utilizados⁸.

Dentre esses estudos podem-se destacar trabalhos correlacionando o uso de NPT, no surgimento da TB^{36,42,45,58-62}. Sabe-se que a NPT promove uma atrofia da mucosa, além de

umentar a permeabilidade intestinal que, em última análise poderiam promover uma falha na barreira mucosa intestinal, e conseqüentemente, aumentar a taxa de complicações sépticas.

A falta de nutrientes no lúmen intestinal, além de promover alterações do tipo: diminuição das células de defesa intestinal e modificações da flora bacteriana intestinal - que juntas, levariam ao aparecimento da TB - conduz também a uma diminuição da secreção de imunoglobulina A (s-IgA)^{11,19,29,63}.

A função primária da s-IgA – além do efeito antiendotoxina - seria ligar-se à bactéria intaluminal, bloqueando a sua fixação aos receptores das células epiteliais prevenindo, assim, a colonização da mucosa e, por conseguinte, a TB. Esses achados da diminuição da s-IgA em combinação com o aumento da população de bactérias gram negativas são consistentes com a hipótese de que a administração de NPT promove TB, pelo desequilíbrio entre as células de defesas da mucosa intestinal e o supercrescimento bacteriano¹⁹.

5.2- COLITE DE DERIVAÇÃO COMO MODELO EXPERIMENTAL

No presente trabalho, escolheu-se o rato para realização do experimento, pelo baixo custo operacional no manuseio desses animais em laboratório, pela similaridade dos aspectos histológicos da sua mucosa com a mucosa humana e, principalmente, por esse modelo animal ser o mais freqüentemente utilizado em estudos de TB^{2,6,10,11,15,17,18,29,64,65}.

Levando-se em conta o efeito “anti-trófico” da colostomia desfuncionalizante que aponta para a importância marcante do conteúdo intraluminal na gênese da CD^{7,8}, e esta, uma vez instalada, promover uma série de alterações histopatológicas e funcionais no cólon, criando, assim, condições para o surgimento da TB, à semelhança dos pacientes com uso de NPT, optou-se, portanto, por esse método de investigação.

Segundo Berg¹⁴, há três condições primordiais para o surgimento da TB: incompetência da barreira intestinal, falência dos mecanismos imunológicos que a protegem e perda do equilíbrio simbiótico entre a microflora intestinal e a mucosa intestinal.

Sabe-se que, na CD – isso já foi constatado em estudo experimental⁸ -, ocorre uma diminuição da espessura da mucosa colônica, a partir do 10^o dia após a realização da colostomia, atingindo sua menor espessura no 70^o dia após esse procedimento.

Além disso, foi observado na CD que, no segmento desfuncionalizado, a flora bacteriana autóctone, constituída de bactérias anaeróbias e aeróbias, sofre alterações tanto de forma qualitativa, quanto quantitativa. Esse impacto na microflora bacteriana do segmento colônico excluído, segundo trabalho realizado por Neut et al⁶⁶, em 16 pacientes - de ambos os sexos, portadores de colostomia - e desfuncionalização, principalmente do segmento colorretal – ocorreu às custas da nítida redução do número de bactérias anaeróbias, quando comparado com o grupo controle. Curiosamente, as bactérias aeróbias facultativas não sofreram modificações.

As bactérias anaeróbias, uma vez diminuídas – em seu número - no segmento colônico distal desfuncionalizado, teriam a sua função - conhecida como resistência por colonização, que impede, por competição, a aderência de bacilos entéricos potencialmente patogênicos aos colonócitos – seriamente afetada, comprometendo, portanto, um componente natural básico da barreira intestinal⁶.

Outro dado de relevância que merece ser citado é o fato de que a diminuição de sais biliares no interior do Tubo Gastrointestinal resulta, também, em alterações da microflora intestinal, conduzindo a um aumento de bactérias gram-negativas e das endotoxinas. Essa perda do efeito emulsificante “antiendotoxinas” da bile, leva a um aumento na quantidade

de endotoxinas no intestino grosso, bem como facilita a sua passagem em maior quantidade para o sistema porta^{29,67,68}. Além desse efeito protetor, não se deve esquecer que, especialmente em ratos, a imunoglobulina A secretória (s-IgA) é quase exclusivamente proveniente da bile^{37,69,70}. Na CD, o segmento desfuncionalizado não contém a presença de bile no seu interior, conseqüentemente os níveis de s-IgA estarão diminuídos, afetando, assim, a atividade imunológica desse segmento.

A motilidade intestinal, envolvendo o complexo motor migratório interdigestivo, está implicado como um mecanismo regulador prevenindo o crescimento bacteriano⁷¹. Scoot et al⁷² demonstraram, em ratos, que a administração de altas doses de morfina conduz a uma deficiência do complexo migratório intestinal promovendo TB.

É conhecido, também, que após a realização da colostomia, no segmento distal desfuncionalizado, ocorre uma diminuição das ondas peristálticas normais. Essas ondas funcionariam como verdadeira lavagem intestinal e uma vez alteradas, comprometeriam o “clareamento peristáltico”, facilitando assim a estase intestinal e, por conseguinte, aumentando a chance de bactérias penetrarem na camada de muco e aderirem ao epitélio^{11,73-76}.

Por todas essas modificações encontradas no segmento de cólon desfuncionalizado, na CD, criando, assim, um ambiente bastante propício ao desenvolvimento da TB, além de, em quase todos os trabalhos da literatura, ser pesquisado apenas o intestino delgado como órgão de origem desse fenômeno (TB), é que se resolveu estudar esse modelo experimental.

Nas referências utilizadas no presente estudo, encontrou-se apenas o estudo experimental de Koh et al² relacionando o processo de TB com o intestino grosso. Nesse estudo², os autores, utilizando-se de diversas concentrações bacterianas (2×10^5 ; 2×10^8 ; 2×10^{11}) de *E.coli* R6, inoculadas em ratos - tanto no intestino delgado como no intestino

grosso - observaram que houve TB nos dois grupos avaliados. No entanto, os autores enfatizaram que a TB ocorreu no intestino grosso apenas na concentração de 2×10^{11} . À semelhança do que aconteceu no presente estudo, onde só houve translocação nos subgrupos A3 e B3, cuja concentração bacteriana de *Escherichia coli* foi, também, de 2×10^{11} . Isso vem corroborar os resultados da pesquisa de Cruz et al, que demonstraram – in vitro – que o processo de TB é dose dependente, ou seja, quanto maior a concentração bacteriana em estudo, maior a possibilidade de haver translocação⁷⁸.

Na maioria dos estudos experimentais^{2,6,11,15,17,18,29,40}, a *E. coli* é relatada como a bactéria mais encontrada no processo de TB, com frequência de até 91% de presença em órgãos e tecidos extra-intestinais¹¹. Já as bactérias anaeróbicas, ou não translocam, ou o fazem raramente^{11,20,76}. Baseado, portanto, nesses dados é que se escolheu analisar exclusivamente essa bactéria (*E. coli*) - que tem predisposição de aderir preferencialmente ao trato intestinal distal, em decorrência do maior número de receptores¹³ – na borda em escova intestinal através da expressão de lecitina específica – normalmente presente nas células epiteliais do hospedeiro⁴⁰.

5.3- AVALIAÇÃO DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA

Várias são as formas de constatar o fenômeno da TB: presença de endotoxinas encontradas nos linfonodos mesentéricos, no sangue portal ou nos órgãos extra-intestinais; identificação do Ácido DesoxiriboNucléico (DNA) bacteriano; aumento dos níveis de mediadores da resposta inflamatória; estudos envolvendo a permeabilidade intestinal aumentada para macromoléculas; ou simplesmente a identificação da bactéria, através de meios de cultura, em tecidos estéreis fora do intestino. Essa última é a mais utilizada⁷⁷.

No presente estudo, foi feita a identificação da *E. coli* ATCC 25922, utilizando-se o aparelho Vitelí bioMérieux. Esse método é considerado de baixo custo, fácil e confiável

(sensibilidade e especificidade acima de 98%)⁷⁹, uma vez que em todas as placas que tiveram resultados semelhantes aos da bactéria inoculada, as características fenotípicas foram testadas e confirmadas com o tipo ATCC 25922. Além de que a ausência de bactérias nos tecidos dos animais que receberam solução salina por via retal (subgrupos A1 e B1) vem reforçar essa hipótese.

É digno de nota que a avaliação da TB pelos métodos de culturas tradicionais pode ser subestimada. Em estudo de Kane et al, foi observado que a frequência de hemoculturas positivas, no grupo de pacientes operados, passou de 14%, quando investigados pelos meios de culturas habituais; para 64%, quando essa avaliação era realizada pela identificação do DNA bacteriano – através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)⁸⁰. Todavia, esse último método, pelo seu alto custo e complexidade técnica, nem sempre se encontra disponível em todos os serviços de investigação.

Mesmo admitindo que os resultados do presente estudo tenham sofrido interferência, uma vez que podem ter sido subestimados pelo método utilizado, não invalidam a sua análise, pois os dois grupos em questão – A e B - foram submetidos à mesma seqüência metodológica e, dessa maneira, se for o caso, ao mesmo erro sistemático. Assim, a nítida diferença evidenciada entre os subgrupos A3 e B3 – no que se refere ao ITB – vem, portanto, responder ao questionamento inicial, da presente investigação: se a atrofia da mucosa intestinal colônica, evidenciada na CD, facilitaria ou não o aparecimento da TB. Segundo análise dos resultados do estudo em questão, não houve associação entre atrofia intestinal e TB.

5.4- IMPORTÂNCIA DO MUCO INTESTINAL

O primeiro passo para a TB do trato intestinal é a aderência do microorganismo à superfície do epitélio. Essa capacidade de aderência celular, portanto, é um importante determinante de virulência da maioria das bactérias patogênicas¹¹.

No entanto, para que essa aderência aconteça, faz-se necessário que a bactéria penetre na camada de muco intestinal. Essa relevante função - de defesa - do muco intestinal tem sido enfatizada desde o estudo de Florey⁸¹, em 1933. Ele referia que a camada de muco atuaria como um mecanismo de barreira, retardando ou impedindo que as bactérias do lúmen intestinal colonizassem a superfície epitelial.

Vários são os componentes primários que constituem a camada de muco intestinal: mucina, IgA, açúcares neutros, proteínas totais, entre outras, cuja diminuição potencializa ao aparecimento da TB. Esses componentes contribuem para uma maior viscosidade e elasticidade desse muco, promovendo a união das bactérias intestinais com as imunoglobulinas - em especial a s-IgA - e, assim, bloqueando a fixação dessas bactérias nos receptores das células epiteliais, prevenindo a colonização da mucosa e por conseguinte, a TB³⁷.

Esse fato foi constatado no estudo de Katayama et al¹⁹, em 1997, que experimentalmente evidenciaram níveis elevados de endotoxinas, na corrente sanguínea de ratos que apresentavam diminuição significativa da quantidade de mucina no muco intestinal.

No presente trabalho, foi avaliada a concentração de açúcares neutros e proteínas totais, nos animais com colostomia (Subgrupo A4) e sem colostomia (Subgrupo B4). Os resultados apontaram para uma maior concentração tanto de açúcares neutros, como de proteínas totais nos animais, em cujo intestino grosso havia desfuncionalização (subgrupo

A4), ou seja, o muco tornou-se muito mais espesso e viscoso, nos animais com colostomia, do que nos ratos com intestino em pleno funcionamento. Isso já era comprovado no próprio ato de coleta desse muco, quando se observava a nítida diferença de consistência (viscosidade do muco) entre os dois grupos em estudo. Provavelmente, essa diferença tenha sido um dos fatores que contribuíram para haver menor translocação nos animais do grupo A em relação aos do grupo B.

5.5- MECANISMOS DE TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA

Vários mecanismos pelos quais as bactérias presentes no lúmen intestinal alcançam os linfonodos mesentéricos e outros tecidos são propostos, entre os quais, pode-se destacar: a impermeabilidade das membranas celulares, a estreita junção entre as células mucosas e o transporte fagocítico. Existem, ainda, múltiplas vias descritas para a TB: migração retrógrada para os pulmões, migração transmural direta – em que pequenas quantidades de endotoxinas alcançam a circulação, via transporte ativo vesicular transepitelial (transcitose) através da célula M, um tipo de célula epitelial especializada que se situa sobre os folículos linfóides¹¹ - e migração para linfonodos mesentéricos e outros tecidos através das vias linfática, vascular, ou de ambas⁸².

A hipótese de que a via linfática intestinal é a principal rota dos fatores tóxicos ou pró-inflamatórios derivados do intestino para atingirem a circulação sistêmica, é sustentada por vários estudos experimentais, que mostram ser o linfonodo mesentérico o primeiro e, às vezes, o único tecido a conter a bactéria translocada, pela evidência de níveis elevados de endotoxinas que são encontradas no ducto torácico antes de aparecerem na veia porta⁸³. O leito vascular pulmonar, portanto, é o segundo tecido, após o linfonodo mesentérico, a ser exposto à bactéria intestinal, uma vez que o ducto torácico drena diretamente para veia subclávia⁸³.

No presente estudo, não houve diferença no percentual de translocação evidenciada tanto no pulmão quanto no fígado, dos animais do subgrupo A3, como também dos animais do subgrupo B3, o que dá suporte à hipótese de que a TB ocorreu tanto pela via linfática quanto pela via hematogênica. No entanto, com relação à média de UFC presentes em ambos os órgãos, observa-se uma discreta diferença no número de colônias, sem alcançar significância estatística, em favor do pulmão quando comparadas ao número de colônias do fígado.

CONCLUSÕES

- 1) A frequência de TB foi menor em ratos com colostomia do que nos ratos com intestino funcionalizado, sendo esse fenômeno proporcional à concentração bacteriana inoculada.
- 2) A colostomia realizada em ratos contribuiu para uma maior viscosidade do muco intestinal, fato esse comprovado pelas dosagens de açúcares neutros e proteínas totais.
- 3) Modificações na arquitetura da mucosa intestinal, como evidenciadas na CD, podem promover alterações na barreira intestinal, mas não conduz necessariamente a maior frequência de TB.

REFERÊNCIAS

1. MacFie J. Bacterial translocation in surgical patients. *Ann R Coll Surg Engl.* 1997; 79(3): 183 - 9.
2. Koh IHJ, Guatelli EFS, Montero, R, Keller MHG, Silva S, Goldenberg S, et al. Where is the site of bacterial translocation- small or large bowel ? *Transplant Proc.* 1996; 28(5): 2661.
3. Deitch EA. Multiple organ failure. *Ann Surg.* 1992; 216: 127-134.
4. Sedman PC, MacFie J, Sagar P. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterol.* 1994; 107: 643- 649.
5. Fink MP. Effect of critical illness on microbial translocation and gastrointestinal mucosa permeability. *Seps Respir Infect.* 1994; 9(3):256-260.
6. Tamayo FG, Valdes LIT, Lopez NM. Bacterial translocation and wasting in stressed mice. *Arch Med Res.* 1996; 27(2): 115-121.
7. Pinto Jr. FEL, Medeiros AC, Oliveira AJF, Medeiros KF, Ramos AMO. Colite de derivação fecal. *Rev Col Bras Cir.* 1999; 26(3): 185-9.
8. Pinto Jr. FEL, Oliveira AJF, Medeiros KF, Ramos AMO, Ramos CCO, Medeiros AC. Repercussões histopatológicas da colostomia no coto colônico distal desfuncionalizado – Estudo experimental em ratos. *Rev Col Bras Cir.* 1999; 26(6): 327-333.
9. Deitch EA. Nutrition and gut mucosal barrier. *Curr Opin Gen Sur.* 1993; 5: 85-91.
10. Werlochow H, Hildebrand GJ, Iamanna C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall in rats: effects of microbial size and concentration. *J Infect. Dis.* 1966; 116: 523-8.

11. Castro LS. Translocação bacteriana e peroxidação lipídica na obstrução intestinal em ratos. Rio de Janeiro, 1999. Tese (doutorado em cirurgia geral).
12. Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg.* 1996; 20(4): 411-7.
13. Edminston Jr CE. Translocação bacteriana. In: Ferraz, Edmundo Machado. In. *Infecção em Cirurgia.* 1^a ed, Rio de Janeiro: Medsi, 1997. cap 13, 185-195.
14. Fine J, Frank E, Rutenburg A. The bacterial factor in traumatic shock. *N Engl J Med.* 1959; 260(2): 214-20.
15. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect Immun.* 1979; 23(2): 403-11.
16. Nieuwenhuijzen GAP, Goris RJA. The gut: the motor of multiple organ dysfunction syndrome? *Curr Clin Nutr Metab Care* 1999; 2(5): 399-404
17. Vanderwaaij D, Berghuis-De Vries JM, Lekkerkerke-Van Der Wees JE. Colonization of digestive tract in the conventional and antibiotic treated mice. *J Hyg* 1971; 69: 405-11
18. Alencar SSS, Medeiros AC, Brandt CT, Aguiar JLA, Rocha KBF, Silva MP. Translocação de bactérias marcadas com Tc⁹⁹ na icterícia obstrutiva em ratos. *Acta Cir Bras.* 2001; 17 Suppl 1: 35-8.
19. Katayama M, Xu D, Specian R, Deitch EA. Role of bacterial adherence and the mucus barrier on bacterial translocation: effects of protein malnutrition and endotoxin in rats. *Ann Surg* 1977; 225(3): 317-26.
20. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL et al. The process of microbial translocation. *Ann Surg.* 1990; 212 (4): 496-512.

21. Deitch EA, Bridges W, Ma JW, Ma L, Berg RD, Specian RD. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. *Am J Surg*. 1990; 159(4): 394-401.
22. Phalipon Sh, Sansonetti PJ. Microbial-host interactions at mucosal sites. Host response to pathogenic bacterial at mucosal sites. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1999; 236: 164-89.
23. Drivas G, James O, Wardle N. Study of reticuloendothelial phagocytic capacity in patients with cholestasis. *Br Med J*. 1976; 1(6025): 1568-9.
24. Gouma DJ, Coelho JC, Fischer JD, Schlegel JF, Li YF, Moody FG. Endotoxemia after relief of biliary obstruction by internal and external drainage in rats. *Am J Surg*. 1986; 151(4): 476-9.
25. Border JR, Hassett J, LaDuca J, Seibel R, Steinberg S, Mills B et al. The gut origin septic states in blunt multiple trauma (ISS=40) in the ICU. *Ann Surg* 1987; 206(4): 427-48.
26. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV et al. Multiple-organ-failure syndrome. *Arch Surg* 1986; 121(2): 196-208.
27. Cerra FB. Hypermetabolism, organ failure, and metabolic support. *Surgery* 1987; 101(1): 1-14.
28. Goris RJA, Boekhorst TPA, Nuytinck JKS, Gimbrere JSF. Multiple organ failure: generalized autodestructive inflammation. *Arch Surg*. 1985; 120(10): 1109-15.
29. Rocha SI. Recuperação em órgãos e tecidos de *Escherichia coli* ATCC 25922, inoculada no íleo terminal de ratos com obstrução intestinal. Paraná. 1999. Tese (Doutorado em cirurgia geral).
30. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL. The gastrointestinal tract. The “undrained abscess” of multiple organ failure. *Ann Surg*. 1993; 218(2): 111-19.

31. Meakins JL, Marshall JC. The gastrointestinal tract: the motor of multiple organ failure. *Arch Surg.* 1986; 121(2): 197-208.
32. Deitch EA, Rutan R, Waymack JP. Trauma, Shock and gut translocation. *Am Coll of Gastroenterology.* 1998; 93(2): 277-8.
33. Baker JW, Deitch EA, Li M, Berg RD, Specian RD. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. *J Trauma.* 1988; 28(7): 896-906.
34. Waitzberg DI, Mester M. Significance of bacterial translocation in nutrition. *Arq Gastroenterol.* 1988; 35(2): 110-15.
35. Spaeth G, Berg RD, Specian R, Deitch EA. Food without fiber promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery.* 1990; 108(2): 240-7.
36. Moore FA, Feliciano DV, Andrassy RJ, McARDLE AH, Booth FVM, Morgenstein-Wagner TB et al. Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications. *Ann Surg.* 1992; 216(2): 172-83.
37. Spaeth G, Gottwald T, Specian RD, Mainous MR, Berg RD, Deitch EA. Secretory immunoglobulin A, intestinal mucin, and mucosal permeability in nutritional induced bacterial translocation in rats. *Ann Surg.* 1994; 220(6): 798-808.
38. Illig KA, Ryan CK, Hardy DJ, Rhodes J, Locke W, Sax HC. Total parenteral nutrition-induced changes in gut mucosal function: Atrophy alone is not the issue. *Surgery.* 1992; 112(4): 631-7.
39. Wernerman J, Hammarqvist F. Bacterial translocation: effects of artificial feeding. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2002; 5(2): 163-6.
40. Nettelbladt CG, Katouli M, Volpe A, Bark T, Muratov V, Svenberg T et al. Starvation increases the number of coliform bacteria in the caecum and induces bacterial adherence to caecal epithelium in rats. *Eur J Surg.* 1997; 163(2): 135-42.

41. DeWitt RC, Kudsk KA. The gut's role in metabolism, mucosal barrier function, and gut immunology. *Infect Dis Clin N Amer*. 1999; 13(2): 465-75.
42. MacFie J. Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutrition*. 2000; 16(7): 606-11.
43. Xu D, Lu Q, Deitch EA. Elemental diet-induced bacterial translocation associated with systemic and intestinal immune suppression. *JPEN*. 1998; 22(1): 37-41.
44. Reynolds JV. Gut barrier function in the surgical patient. *Br J Surg*. 1996; 83: 1668-9.
45. Kudsk Ka, Croce MA, Fabian TC, Minard G, Tolley EA, Poret A et al. Enteral versus parenteral feeding. Effects on septic morbidity after blunt and penetrating abdominal trauma. *Ann Surg*. 1983; 23(4): 503-13.
46. Roediger WEW. What sequence of pathogenetic events lead to acute ulcerative colitis? *Dis Colon Rectum*. 1988; 31(6): 482-7.
47. Roediger WEW. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*. 1980; 21(9): 793-8.
48. Roediger WEW. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency diseases? *The Lancet*. 1980; 4(2): 712-715.
49. Yemm EW, Willis AJ. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The biochemical Journal*. 1954; 57: 508-15.
50. Smith PK. Measurement using bicinchoninic acid. *Anal Biochem*. 1985; 150: 76-85.
51. Medeiros AC, Aires Neto T, Dantas Filho AM, Pinto Jr FEL, Uchoa RAC, Carvalho MR. Infecção hospitalar em pacientes cirúrgicos de hospital universitário. *Acta Cir Bras*. 2003; 18(1): 15-8.

52. Ferraz EM, Ferraz AAB, Bacelar TS, D'Albuquerque HS, Vasconcelos MDM, Leão CS. Controle de infecção em cirurgia geral – resultado de um estudo prospectivo de 23 anos e 42.274 cirurgias. *Rev Col Bras Cir.* 2001; 28(1): 17-26.
53. O'Boyle CJ, MacFie J, Dave K, Sagar OS, Poon P, Mitchell CJ. Alterations in intestinal barrier function do not predispose to translocation of enteric bacteria in gastroenterologic patients. *Nutrition.* 1998; 14(4): 358-62.
54. Deitch EA, Sittig K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg.* 1990; 159(1): 79-84.
55. Fine J. Current status of the problem of traumatic shock. *Surg Gynecol Obstet.* 1965; 120: 537-544.
56. Selective Decontamination of the Digestive Tract Trialists' Collaborative Group. Meta-analysis of randomized controlled trials of selective decontamination of the digestive tract. *Br Med J* 1993; 307: 525-32.
57. D'Amico R, Pifferi S, Leonetti C, Torri V, Tinazzi A, Liberati A. Effectiveness of antibiotic prophylaxis in critically ill adult patients: systematic review of randomised controlled trials. *Br Med J.* 1998; 316: 1275-85.
58. Sedman PC, MacFie J, Palmer MD, Mitchell CJ, Sagar PM. Preoperative total parenteral nutrition is not associated with mucosal atrophy or bacterial translocation in humans. *Br J Surg.* 1995; 82(2): 1663-9.
59. Shirabe K, Matsumata T, Shimada M, Takenaka K, Kawahara N, Yamamoto K, et al. A comparison of parenteral hyperalimentation and early enteral feeding regarding systemic immunity after major hepatic resection – the results of a randomized prospective study. *Hepatogastroenterology.* 1997; 44(13): 205-9.

60. Welsh FKS, Farmery SM, MacLennan K. Gut barrier function in malnourished patients. *Gut*. 1998; 42(6): 396- 403.
61. Ziegler TR, Smith RJ, O'Dwyer ST. Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. *Arch Surg*. 1998; 123(1): 1313-1320.
62. Shou J, Lappin J, Minnard EA, Daly JM. Total parenteral nutrition, bacterial translocation, and host immune function. *Am J Surg*. 1994; 167(1): 145-50.
63. Rozee KR, Cooper D, Lam K. Microbial flora of the mouse ileum mucus layer and epithelial cell surface. *Appl Environ Microbiol*. 1982; 43: 1451-63.
64. Deitch EA, Berg RD. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation of the gut flora in burned mice. *J Trauma*. 1987; 27(2): 161-6.
65. Maejima K, Deitch EA, Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury. *Infec Immun*. 1984; 43: 6-10.
66. Neut C, Colombel JF, Guillemot F, Cortot A, Gower P, Quandalle P, et al. Impaired bacterial flora in human excluded colon. *Gut*. 1989; 30(8): 1094-8.
67. Bailey ME. Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. *Br J Surg*. 1976; 63(2): 774-8.
68. Kócsar LT, Bertók L, Varteresz V. Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats. *J Bacteriol*. 1969; 100: 220-3.
69. Lichtman S, Sherman S, Forstner G. Production of secretory immunoglobulin A in rat self-filling blind loops. *Gastroenterology*. 1986; 91(3): 1495-1502.
70. Lim GM, Sheldon GF, Alverdy J. Biliary secretory IgA levels in rats with protein-calorie malnutrition. *Ann Surg*. 1988(6); 207: 635-40.
71. Nieuwenhuijs VB, Verheem A, Duijvvenbode-Beumer HV, Visser MR, Verhoef J, Gooszen HG, et al. The role of interdigestive small bowel motility in the regulation of

- gut microflora, bacterial overgrowth, and bacterial translocation in rats. *Ann Surg.* 1998; 228(2): 188-95.
72. Scott LD, Cahall DL. Influence of the interdigestive myoelectric complex on enteric flora in the rat. *Gastroenterology.* 1982; 82: 737-45.
73. Clements WD, Parks R, Erwin P, Halliday ML, Barr J, Rowlands BJ. Role of gut in the pathophysiology of extrahepatic biliary obstruction. *Gut.* 1996; 39(4): 587-93.
74. Wang XD, Soltesz V, Anderson R. Cisapride prevents enteric bacterial overgrowth and translocation by improvement of intestinal motility in rats with acute liver failure. *Eur Surg Res.* 1996; 28: 402-12.
75. Wang XD, Soltesz V, Axelson J. Cholecystokini increases small intestinal motility and reduces enteric bacteria overgrowth and translocation in rats with surgically induced acute liver failure. *Digestion.* 1996; 57: 67-72.
76. Zapata-Sirvent RL, Marzullo VM, Pinata S. Translocation bacteriana en un modelo de obstrucción intestinal: II estudio bacteriológico y papel de la inmunidad celular. *G E N.* 1991; 3: 185-193.
77. Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg.* 2003; 186(3): 301-5.
78. Cruz N, Lu Q, Alvarez X, Deitch EA. Bacterial translocation is bacterial species dependent: results using the human Caco-2 intestinal cell line. *J Trauma.* 1994; 36(5): 612-6.
79. La Maza, Pezzlo MT, Baron EJ. Atlas de diagnóstico em microbiologia. 1ª ed, Porto Alegre: Artmed, 1997.
80. Kane TD, Alexander JW, Johanningman JA. The detection of microbial DNA in the blood. *Ann Surg.* 1998, 227(1): 1-9.

81. Florey HW. Observations on the functions of mucus and the early stages of bacterial invasion of the intestinal mucosa. *J Pathol Bacteriol* 1933; 37: 283-289.
82. d'Acampora AJ, Ortellado DK, Carvalho ROM, Serafim JDM, Farias DC, Tramonte R. Atrofia mucosa/translocação bacteriana na sepse experimental em ratos Wistar. *Acta Cir Bras*[serialonline]2004Set-Out;19(5). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>
83. Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? *Surgery* 2002; 131(3): 241-4.