

DANIEL KNABBEN ORTELLADO

**ESTUDO HISTOLÓGICO DA MUCOSA INTESTINAL
APÓS A INDUÇÃO DE SEPSE ABDOMINAL EM RATOS
WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para a
conclusão do curso de graduação em
Medicina**

FLORIANÓPOLIS – SANTA CATARINA

2000

DANIEL KNABBEN ORTELLADO

**ESTUDO HISTOLÓGICO DA MUCOSA INTESTINAL
APÓS A INDUÇÃO DE SEPSE ABDOMINAL EM RATOS
WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para a
conclusão do curso de graduação em
Medicina**

Coordenador do curso: Prof. Dr. Edson José Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Armando José d'Acampora

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Tramonte

FLORIANÓPOLIS – SANTA CATARINA

2000

Ortellado D. K. *Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.*

Florianópolis, 2000.

45p.

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, para a conclusão do Curso de Graduação em Medicina – UFSC.

1.Sepse 2.*Pseudomonas aeruginosa* 3.Intestino delgado 4.Translocação bacteriana.

AGRADECIMENTOS

À minha **família** pelo carinho, cuidados e sacrifícios dispensados durante toda minha formação acadêmica.

Aos meus **amigos**, que, verdadeiros irmãos, me ajudaram nos momentos de tristeza, dificuldade e necessidade.

Aos **professores da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental** pelo estímulo constante à prática da cirurgia experimental, instrumento indispensável na formação de um bom cirurgião.

Ao professor e amigo **Armando José d'Acampora**. Mais que orientador acadêmico, orientador de lições de vida. Um agradecimento especial por toda ajuda prestada durante todos os anos de convívio.

Ao professor **Ricardo Tramonte**, surpreendente descoberta e fonte incansável de conhecimentos.

A todo o pessoal do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC: **Charles Veiga, Jaimar Gonçalves da Silva, Sandra Neves Geremias** e, em especial, ao amigo **Luiz Henrique Prazeres**, exemplo de dedicação exclusiva à vida profissional.

Aos colegas, amigos e verdadeiros companheiros **Roberta Oliveira Magalhães Carvalho, Graziela Schmitz Bonin, Luciana Krause Santana, Marcos Miroski Gerente e João Daniel May Serafim** pela ajuda na elaboração do experimento e opinião durante toda a confecção deste trabalho.

Ao **Laboratório Santa Luzia** pelo fornecimento das cepas de bactéria utilizadas neste experimento.

Ao **Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário** pela realização da hemocultura e cultura peritoneal.

À **Sílvia Nassar** pela ajuda, sempre que solicitada, na realização da análise estatística dos dados obtidos.

A todos, que de forma direta ou indireta, foram importantes na minha formação como médico e como pessoa.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	5
3. MÉTODO	6
4. RESULTADOS	22
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÕES	40
7. REFERÊNCIAS	41

NORMAS ADOTADAS

RESUMO

SUMMARY

APÊNDICE

1. INTRODUÇÃO

As informações adquiridas nos últimos anos a respeito da fisiopatologia da sepse abdominal e da relação agente infectante/hospedeiro não proporcionaram um resultado satisfatório no tratamento dessa doença, estando a taxa de mortalidade ainda muito distante de um nível aceitável.

Apesar de todos os avanços no diagnóstico e tratamento da sepse abdominal, a mortalidade continua semelhante àquela de quatro décadas atrás^{1, 2, 3, 4, 5}. Por outro lado, poucos autores demonstram uma redução considerável na mortalidade da sepse abdominal com o advento de novas formas de tratamento^{6, 7, 8}.

Na literatura, a taxa de mortalidade nos pacientes vítimas de sepse abdominal varia de 20 a 80%^{2, 3, 5, 9, 10}. Essa grande diferença entre os índices de mortalidade nos vários trabalhos reflete uma não padronização de parâmetros de observação da sepse.

A morte ocorre em virtude da disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS), secundária à manutenção da sepse intraperitoneal⁸ com focos residuais de infecção, ou em decorrência da translocação bacteriana e da liberação de mediadores inflamatórios⁶.

Berg e Garlington, em 1979, definiram a translocação bacteriana como a passagem de bactérias viáveis através da mucosa intestinal até a lâmina própria, e desta para os linfonodos mesentéricos e, possivelmente, para outros tecidos¹¹.

Essa definição foi posteriormente adaptada, incluindo a passagem de microorganismos ou seus produtos tóxicos (endotoxinas) através da barreira intestinal.

A translocação bacteriana foi descrita pela primeira vez há um século, em animais de experimentação, primeiramente com bactérias Gram negativas¹². Hoje sabe-se que, além das bactérias Gram negativas, endotoxinas, bactérias Gram positivas e fungos também podem atravessar a barreira mucosa¹³.

Os mecanismos que controlam a translocação bacteriana dependem de múltiplos fatores relacionados ao microrganismo e ao hospedeiro¹⁴.

Os microorganismos intracelulares facultativos (*Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes*) e as bactérias Gram negativas podem atravessar a parede intestinal de forma razoavelmente fácil. As bactérias anaeróbias raramente translocam¹⁵. Entretanto, essas bactérias têm uma importante função, prevenindo a colonização entérica por agentes potencialmente patogênicos, principalmente bactérias Gram negativas¹⁶.

Os mecanismos de defesa do hospedeiro contra a translocação bacteriana incluem o ácido gástrico, enzimas pancreáticas, bile, muco intestinal, barreira de células epiteliais com junções intercelulares, motilidade do trato gastro-intestinal e sistema imunológico local antígeno-específico¹².

Dentre esses fatores, talvez um dos mais importantes na fisiopatologia da translocação bacteriana seja o papel de barreira exercido pela mucosa intestinal.

A luz do trato gastro-intestinal normalmente contém inúmeras espécies de bactérias, aumentando do proximal para o distal em espécies e quantidade¹⁷, e uma alta concentração de endotoxinas. Cabe à mucosa intestinal a função de exercer localmente uma defesa contra a absorção e disseminação desses agentes patógenos¹⁸.

A integridade física da mucosa provavelmente representa a principal linha de defesa dessa barreira intestinal¹⁹, sendo auxiliada pelos componentes do sistema imune celular (enterócitos, macrófagos e linfócitos T) e humoral (IgG, IgM e IgA secretória).

A manutenção da integridade celular do epitélio intestinal evita a migração trans-epitelial de partículas da luz intestinal, enquanto a preservação das junções intercelulares previne o movimento dessas partículas através dos canais paracelulares²⁰.

Um aumento na absorção de macromoléculas, bactérias e toxinas bacterianas tem sido demonstrado em situações onde a mucosa intestinal está danificada por inflamação, infecção ou neoplasia²¹. O significado dessa afirmação ainda é difícil de ser determinado, mas os trabalhos mais recentes sugerem que a translocação de microorganismos e toxinas ativa uma reação inflamatória em cadeia que promove a falência orgânica^{14, 22}.

A translocação bacteriana seria responsável por uma bacteremia que levaria a uma resposta inflamatória sistêmica que inclui: (1) temperatura corporal maior que 38 °C ou menor que 36 °C, (2) frequência cardíaca maior que 90 batimentos por minuto, (3) frequência respiratória maior que 20 movimentos respiratórios por minuto e (4) leucocitose ou leucopenia ou mais que 10% de formas imaturas de leucócitos¹⁴.

Quando essa síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) está associada a um foco infeccioso confirmado, pode-se caracterizar uma sepse.

Suspeita-se que a lesão inicial da SRIS seja a síntese de mediadores pró-inflamatórios (principalmente o fator de necrose tumoral e a interleucina 1). Se esses agentes inflamatórios atingirem nível crítico, uma reação sistêmica seria desencadeada, levando à falência progressiva das funções vitais com disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS)²³.

A DMOS é uma complicação temida da sepse. Os trabalhos atuais procuram meios de evitar ou reduzir a translocação bacteriana. Isso, aparentemente, reduziria a ocorrência de complicações infecciosas e de DMOS em pacientes graves²².

Na literatura pesquisada, não foram encontrados trabalhos que esclareçam todas as dúvidas a respeito da influência da sepse no tamanho da mucosa intestinal e da mucosa intestinal na ocorrência de translocação bacteriana.

2. OBJETIVO

Avaliar histologicamente a camada mucosa do intestino delgado de ratos Wistar após sepse experimental de origem abdominal.

3. MÉTODO

3.1. AMOSTRA

O experimento foi realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC.

Foram utilizados 50 (cinquenta) ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, todos do sexo feminino, com idade média de 120 dias e peso entre 150 e 250 gramas (g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os animais receberam alimentação própria para a espécie, com acesso livre a dieta e água durante todo o experimento, sendo mantidos sob luz natural, em gaiolas de plástico, comportando de 1 (um) a 3 (três) animais por gaiola, numa temperatura média de 25 (vinte e cinco) graus Celsius mantida com a ajuda de um condicionador de ar, em condições ambientais de ruído, temperatura e umidade, consideradas boas pelo Veterinário do Biotério Central da UFSC.

Os animais foram distribuídos em 5 (cinco) subgrupos de 10 (dez) ratos cada um, conforme a descrição a seguir:

1) GRUPO CONTROLE - C (n = 10): injetou-se um inóculo padrão intraperitonealmente, por via transparietal em 10 (dez) ratos. Esses animais foram submetidos a avaliação clínica constante e não receberam nenhum tipo de tratamento.

2) GRUPO DRENO - D (n = 10): injetou-se um inóculo padrão intraperitonealmente, por via transparietal em 10 (dez) ratos. Esses

animais foram submetidos a avaliação clínica constante e após 6 (seis) horas da inoculação, os animais foram anestesiados de forma padrão. Após a anestesia, foi realizada antissepsia da parede abdominal, laparotomia e drenagem da cavidade abdominal através de um dreno laminar. Após a operação foi realizada observação clínica do animal até o momento do óbito.

3) GRUPO LAVADO – L (n = 10): injetou-se um inóculo padrão intraperitonealmente, por via transparietal em 10 (dez) ratos. Esses animais foram submetidos a avaliação clínica constante e após 6 (seis) horas da inoculação, os animais foram anestesiados de forma padrão. Após a anestesia, foi realizada antissepsia da parede abdominal, laparotomia e lavagem da cavidade abdominal com 20 (vinte) mililitros (ml) de solução aquosa de cloreto de sódio na concentração de 0,9%. Após a operação foi realizada observação clínica do animal até o momento do óbito.

4) GRUPO LAVADO + DRENO – LD (n = 10) : injetou-se um inóculo padrão intraperitonealmente, por via transparietal em 10 (dez) ratos. Esses animais foram submetidos a avaliação clínica constante e após 6 (seis) horas da inoculação, os animais foram anestesiados de forma padrão. Após a anestesia, foi realizada antissepsia da parede abdominal, laparotomia, lavagem da cavidade abdominal com 20 (vinte) ml de solução aquosa de cloreto de sódio na concentração de 0,9% e drenagem da cavidade através de um dreno laminar. Após a operação foi realizada observação clínica do animal até o momento do óbito.

5) GRUPO NORMAL – N (n = 10): 10 (dez) animais hígidos, os quais não receberam a injeção do inóculo intraperitoneal, foram anestesiados e induzidos à eutanásia para obtenção de amostras de jejuno para avaliação morfométrica de uma parede intestinal normal.

3.2. PROCEDIMENTOS

IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

Cada gaiola plástica continha de 1 (um) a 3 (três) animais, de acordo com o grupo a ser estudado. Os animais foram isolados da forragem por uma grade de aço inoxidável, sem contato com as secreções fisiológicas do animal (urina e fezes).

Os animais foram identificados através de numeração de acordo com uma marcação feita em suas caudas com tinta indelével, da seguinte maneira: o rato sem marca era considerado o número 0 (zero), o rato com uma marca o número 1 (um), o rato com duas marcas o número 2 (dois) e o com três marcas o número 3 (três).

Os animais pertencentes ao grupo experimento, isto é, submetidos a algum procedimento cirúrgico, eram mantidos isolados em uma gaiola.

Aqueles que não eram submetidos a procedimento cirúrgico ficavam em 2 (dois) a 3 (três) animais por gaiola.

A identificação individual de cada animal foi feita com um número de três dígitos, sendo que os dois primeiros correspondiam ao número da gaiola em que o animal estava contido (01 a 33), e o terceiro dígito correspondia ao número do animal (0 a 3).

PROCEDIMENTO DE PREPARAÇÃO DO INÓCULO

O inóculo foi obtido a partir de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* no Laboratório Médico Santa Luzia (Florianópolis - SC), tendo sido realizada a cultura dessas cepas, encontrando-se apenas *Pseudomonas aeruginosa* como resultado.

Essas culturas foram transferidas para um meio de cultivo Miller-Hinton, depositado em placas de Petry e mantidas no laboratório por repiques sucessivos para a suspensão em solução aquosa de cloreto de sódio a 0,9%, na quantidade de $1,2 \cdot 10^9$ bactérias por mililitro (ml) de suspensão, medidas através de uma escala de MacFarland, lida ao colorímetro de luz.

PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Todos os animais foram previamente sorteados, identificados, pesados e submetidos a anestesia geral com uma solução anestésica padrão.

Foi utilizada uma solução de Cetamina (5 ml) e Xilasina a 2% (1 ml) sendo injetado 0,5 ml da solução, pela via intramuscular, na face interna da pata traseira direita do animal, conforme demonstrado na figura 1.

O animal foi considerado anestesiado, quando havia perdido o reflexo córneo-palpebral e não exibia qualquer reação motora pela preensão do coxim adiposo de sua pata dianteira.



Fig 1 – Anestesia do animal de experimentação na pata traseira direita.

PROCEDIMENTO DE INOCULAÇÃO

Após a anestesia, os animais foram imobilizados, colocados em uma prancha de madeira de 30 x 35 cm, protegida por uma lâmina de isopor de 1 (um) cm de espessura e fixados pelas suas patas através de elásticos na posição de decúbito dorsal horizontal.

Para induzir a infecção peritoneal foi utilizado um preparado de bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, na quantidade de $1,2 \cdot 10^9$ bactérias por mililitro.

Após anti-sepsia da parede ântero-lateral do abdome com álcool iodado a 2%, introduziu-se 1 ml do inóculo bacteriano para cada 100g de peso do animal, via punção abdominal no quadrante inferior esquerdo do abdome conforme demonstrado na figura 2.



Fig 2: Injeção do inóculo padrão de *Pseudomonas aeruginosa* no quadrante inferior esquerdo do abdome.

PROCEDIMENTO OPERATÓRIO

Os procedimentos operatórios foram realizados em ambiente propício, seguindo as normas de antissepsia a uma temperatura média de 25 (vinte e cinco) graus Celsius, com auxílio de condicionador de ar.

Antes da laparotomia, todos os animais, já identificados através de numeração, foram novamente pesados.

Após 6 horas da inoculação, os animais foram novamente submetidos a anestesia geral, conforme descrito anteriormente. Após a anestesia, os animais foram imobilizados e colocados em uma prancha de madeira de 30 cm x 35 cm e fixados pelas suas patas através de elásticos, na posição de decúbito dorsal horizontal.

Após a epilação e anti-sepsia em toda a parede anterior e lateral do abdome do animal, com álcool iodado a 2 %, foi realizada uma laparotomia mediana de 4 cm.

De acordo com o grupo a que o animal pertencia, foram feitos diferentes procedimentos.

No subgrupo **lavado (L)**, foram introduzidos 20 ml de soro fisiológico 0,9% na cavidade abdominal e posteriormente aspirados com seringa de 20 ml, conforme figura 3.

No subgrupo **dreno (D)**, foi realizada uma incisão de contra-abertura de aproximadamente 1 cm no flanco esquerdo dos animais. Através desta incisão foi exteriorizado um dreno laminar medindo 5 cm x 1 cm, e fixado por um ponto com fio monofilamentar de *Nylon*® 5-0, como demonstrado na figura 4.

No subgrupo **lavado + dreno (LD)**, ambos os procedimentos anteriormente descritos foram realizados.

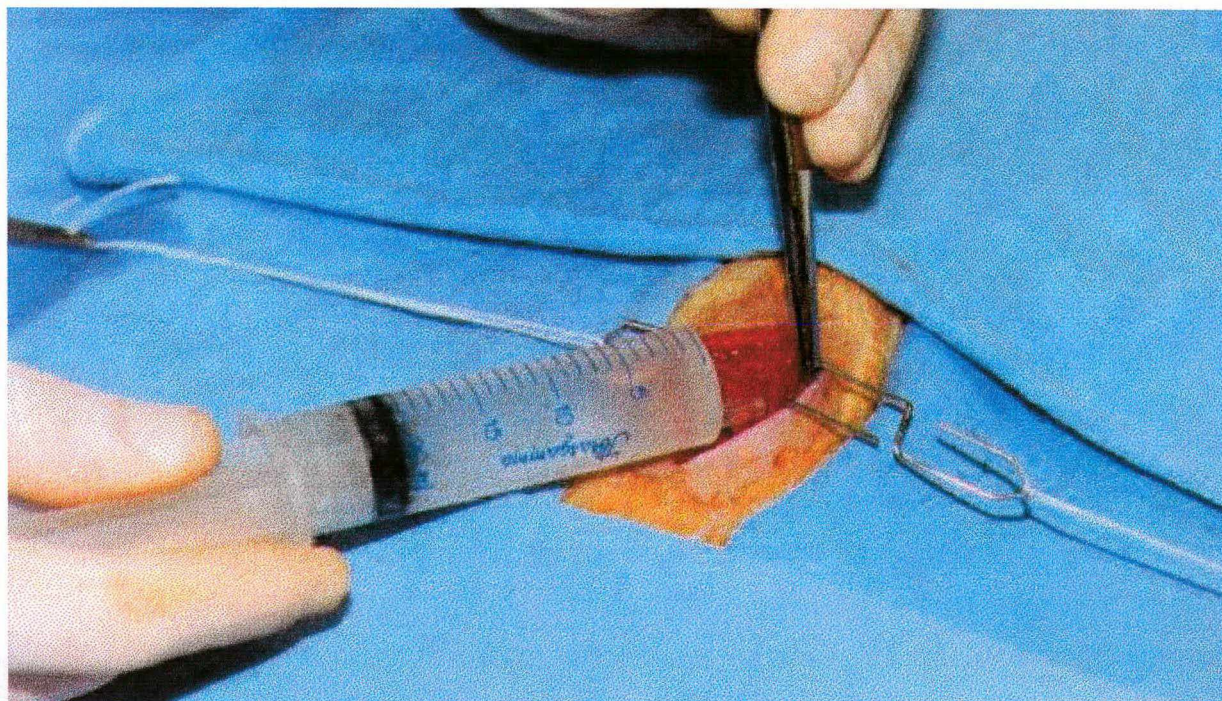


Fig 3: Lavagem da cavidade abdominal com 20 ml de SF 0,9%.

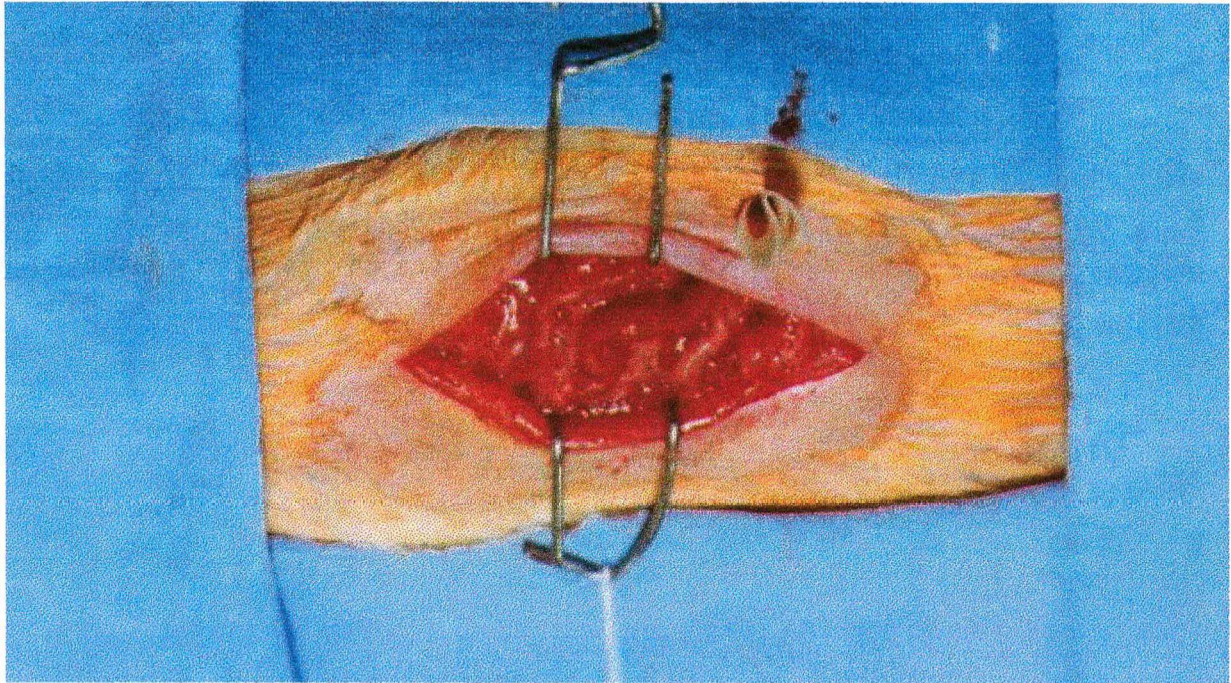


Fig 4: Dreno laminar no flanco esquerdo do animal de experimentação

Após o procedimento específico para cada grupo, realizou-se a síntese da parede abdominal por planos.

Para as camadas peritoneal e muscular, foi utilizado fio de polipropileno 5-0, em chuleio contínuo interrompido a cada quatro pontos. A pele foi suturada com fio monofilamentar de *Nylon*® 5-0 com pontos simples, conforme demonstrado na figura 5.

Nos animais em que se usou o dreno abdominal, foram utilizados dispositivos tipo “colar cervical”, conforme descrito por Ely²⁴ com o objetivo de manter a imobilidade da cabeça do animal e, portanto, evitar que o mesmo retirasse o dreno, como apresentado na figura 6.

Os animais foram, posteriormente, acompanhados em sua evolução clínica até o óbito.

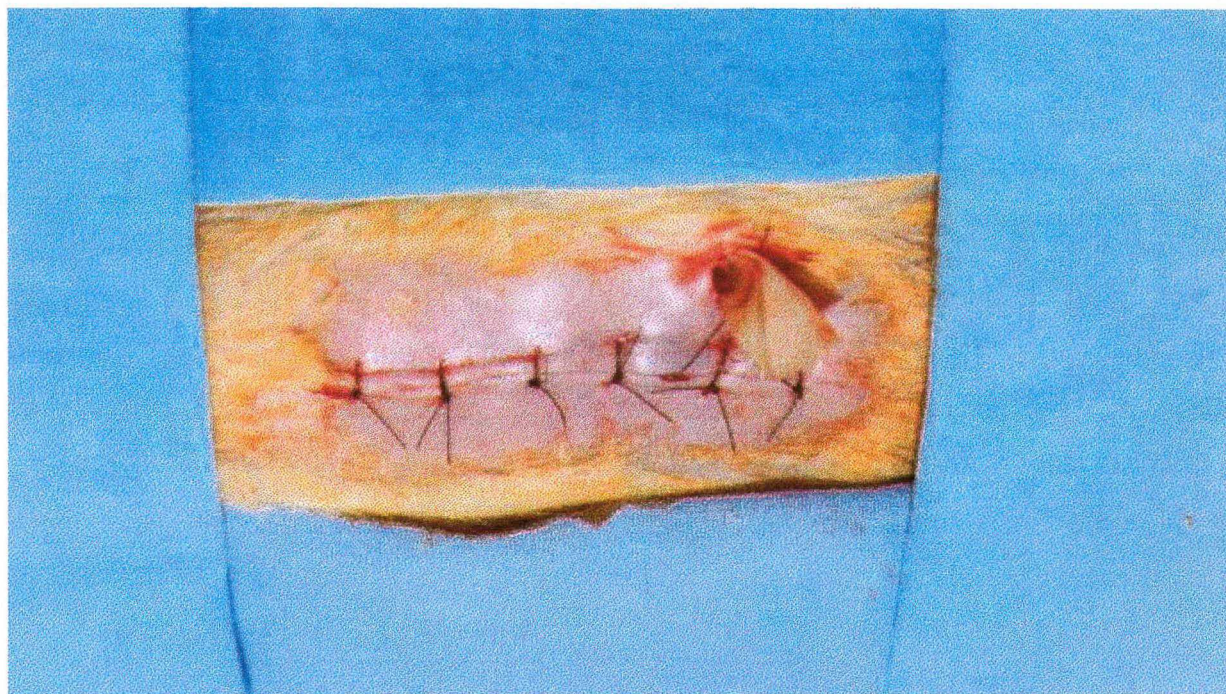


Fig 5: Síntese da laparotomia por planos com sutura da pele com fio de *Nylon*® 5-0.

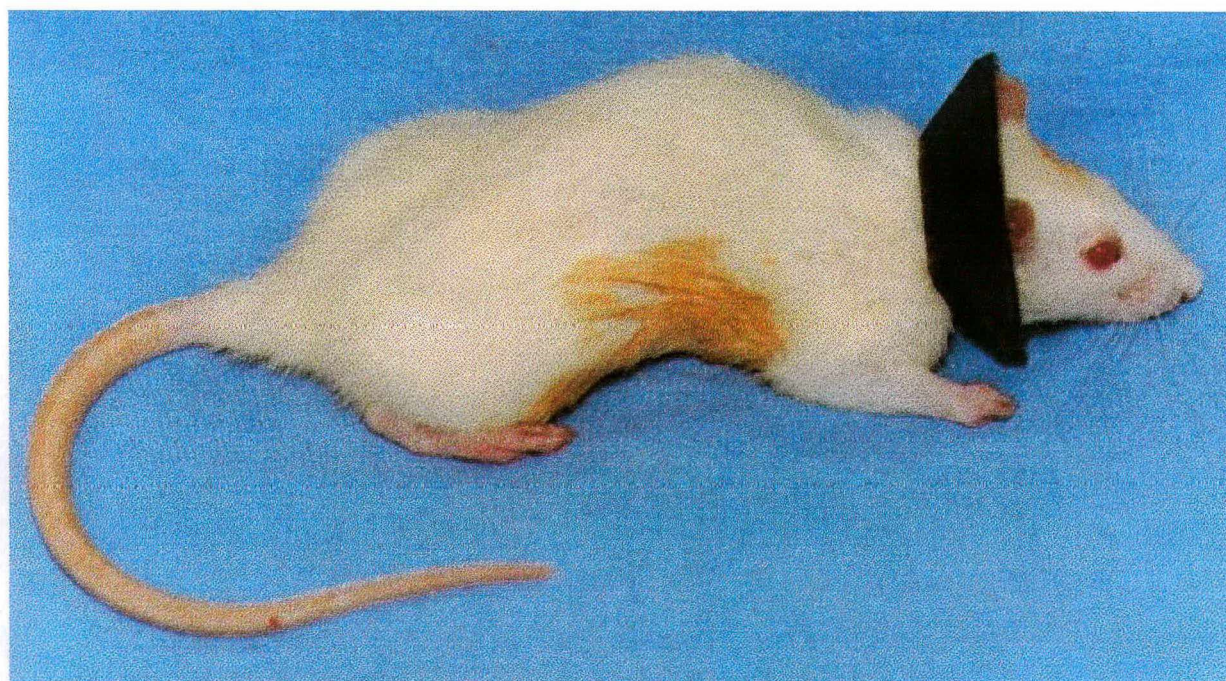


Fig 6: Dispositivo tipo colar cervical usado nos ratos dos grupos Dreno e Lavado + Dreno.

NECRÓPSIA

Após o óbito, os animais foram submetidos a incisão tóraco-abdominal, para a realização do inventário das cavidades, conforme figura 7.

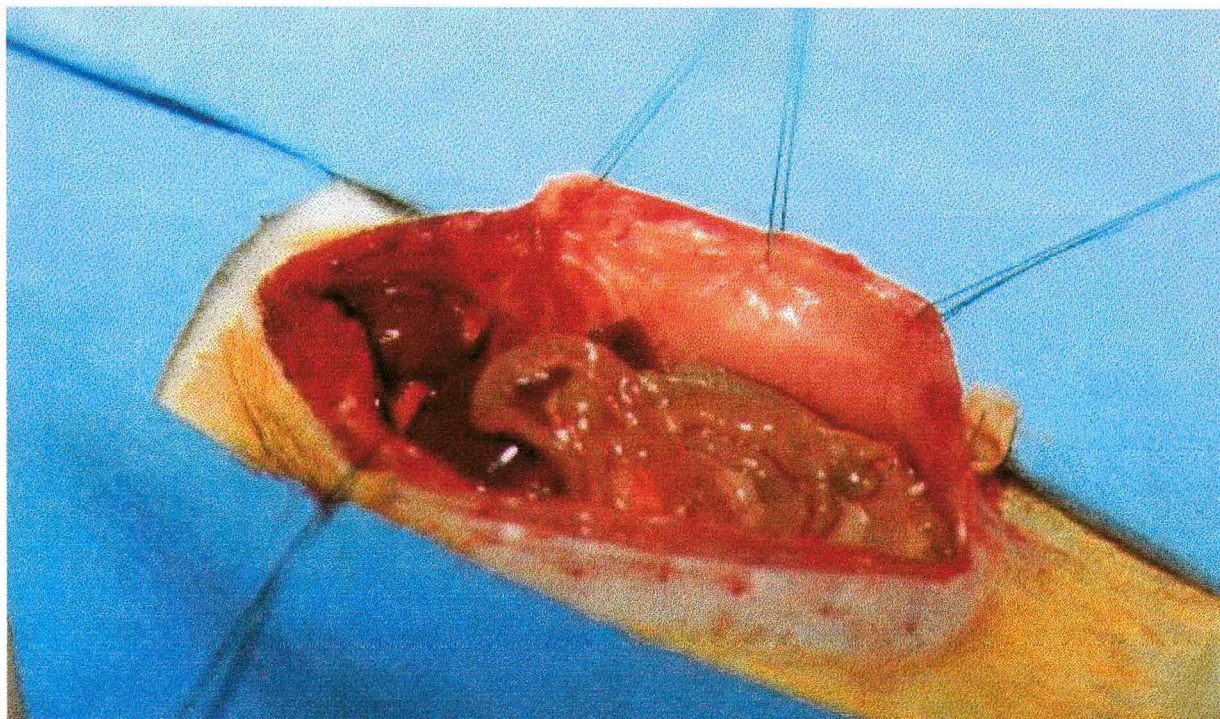


Fig 7: Incisão tóraco abdominal para realização da necrópsia

Para avaliação histológica, foram retirados fragmentos de intestino delgado de 2 cm de comprimento, num ponto localizado a 5 cm distalmente ao ângulo de Treitz, de acordo com a figura 8.

Para realização de hemocultura, foi colhida uma amostra de 1 ml de sangue intracardíaco sob condições assépticas, como demonstrado na figura 9. Essa amostra foi preservada em meio específico para cultivo de bactérias aeróbicas (Pedi-BacT® - Laboratório Organon Teknika).

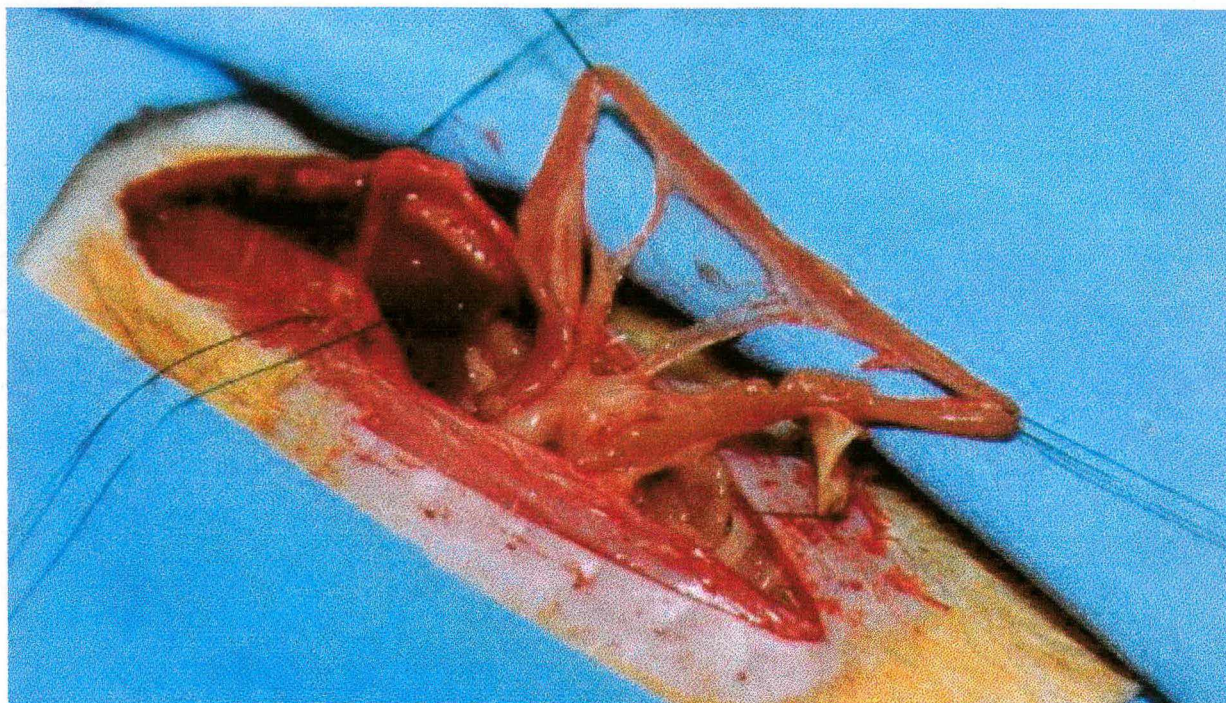


Fig 8: Ressecção do jejuno 5 cm distalmente ao ângulo de Treitz.

Para realização da cultura peritoneal, foi colhida amostra de líquido peritoneal da parede antero-lateral esquerda com um *swab* apropriado e técnica asséptica adequada, conforme figura 10. O líquido peritoneal foi imediatamente semeado em placas de Petry com meio de cultura de ágar MacConkey.

No subgrupo **normal**, foi realizada apenas anestesia, eutanásia do animal e obtenção de amostra de intestino delgado conforme descrito anteriormente.

Os animais que sobreviveram foram submetidos a eutanásia após 48 hs, quando então os mesmos procedimentos acima descritos foram realizados.

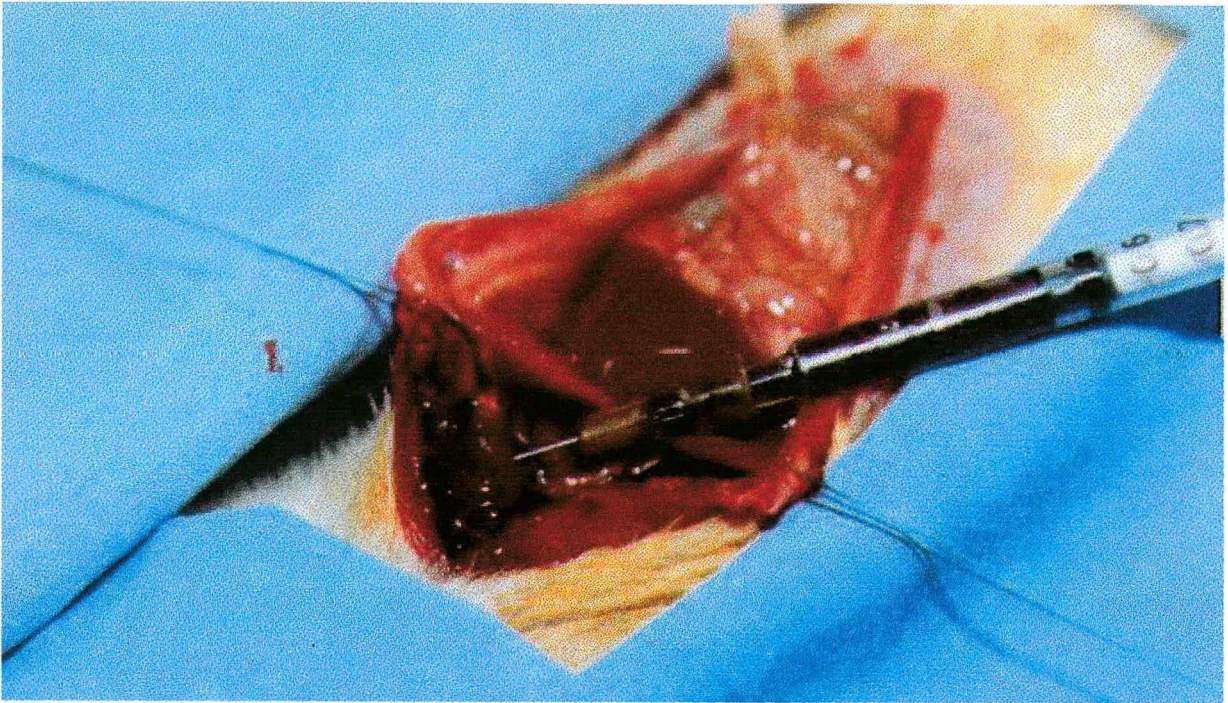


Figura 9: Coleta de sangue intra-cardíaco para realização de hemocultura.

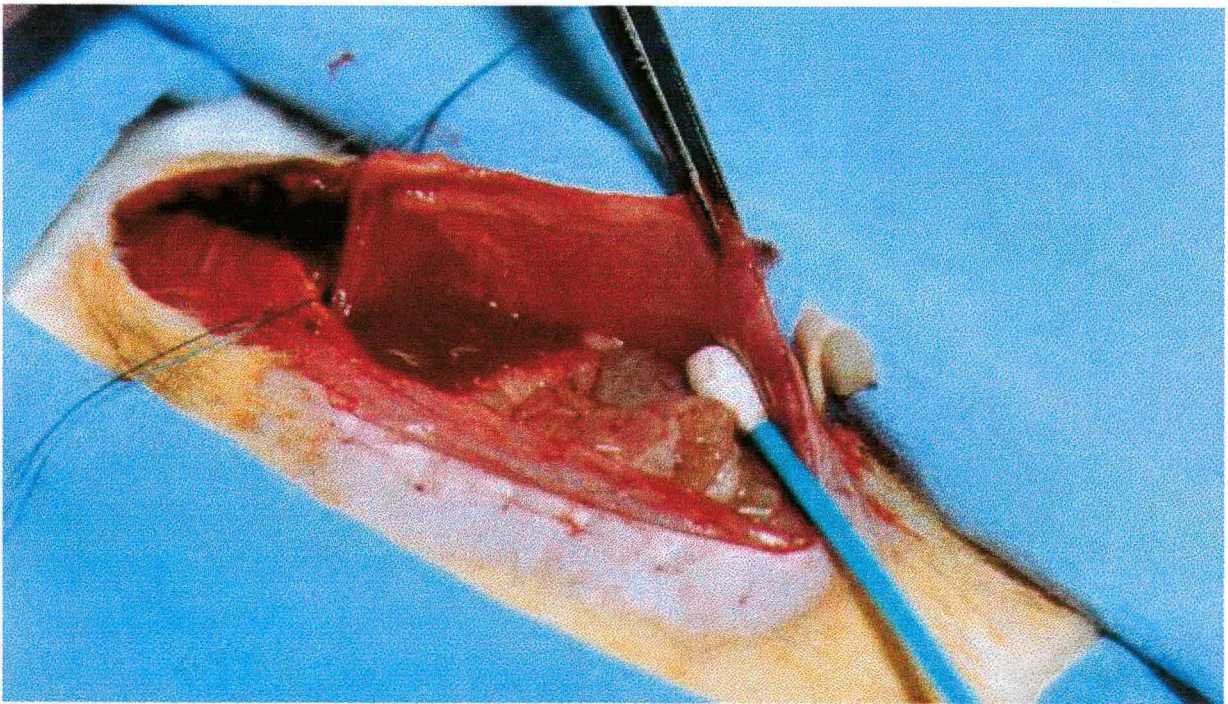


Fig 10: Coleta de líquido peritoneal com swab adequado para realização de cultura peritoneal.

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Imediatamente após a necrópsia, as peças retiradas dos animais experimentais foram imersas em solução aquosa de cloreto de sódio a 0,9% e fixadas em solução de Bouin a 10%. A seguir, as peças foram enviadas ao Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da UFSC, onde foi realizado todo o procedimento de análise histológica sem o conhecimento da relação entre as peças analisadas e os grupos do experimento.

As peças fixadas foram submetidas ao processo de inclusão em parafina, seguindo a técnica histológica de rotina.

Após a inclusão em parafina, as peças de intestino delgado foram seccionadas em micrótomo para obtenção de cortes histológicos de 10 μm de espessura segundo um mesmo plano de corte transversal ao sentido da peça.

As lâminas assim obtidas foram coradas empregando-se o método da Hematoxilina-Eosina e submetidas a análise morfométrica seguindo os parâmetros propostos por Nascimento²⁵ para análises morfométricas em cortes de intestino delgado de ratos.

Para o presente trabalho, foi adaptada uma régua ocular ao microscópio óptico que foi calibrada empregando-se uma lâmina objeto, com o objetivo de estipular, em micrômetros (μm), as medidas obtidas.

Com a régua ocular, na objetiva de dez vezes, foi realizada a medida da espessura total da parede do intestino delgado e da espessura da camada mucosa e submucosa em uma vilosidade seccionada de forma longitudinal. Apenas vilosidades seccionadas longitudinalmente da sua base até o seu ápice com uma única camada de células epiteliais foram consideradas para avaliação das espessuras do intestino delgado.

A medida da espessura total da parede do intestino delgado foi realizada colocando o ponto zero da régua ocular na camada serosa abaixo da vilosidade,

medindo-se a espessura até a última camada de células epiteliais em micrômetros, conforme demonstrado nas figuras 11, 12 e 13.

A medida da camada mucosa e submucosa foi realizada colocando-se o zero da régua ocular entre as células da camada muscular circular interna e as da submucosa, medindo-se até a última camada de células epiteliais no ápice da vilosidade.

Foram realizadas medidas das 3 (três) melhores vilosidades visualizadas, sendo utilizado como resultado, o valor médio dessas medidas.

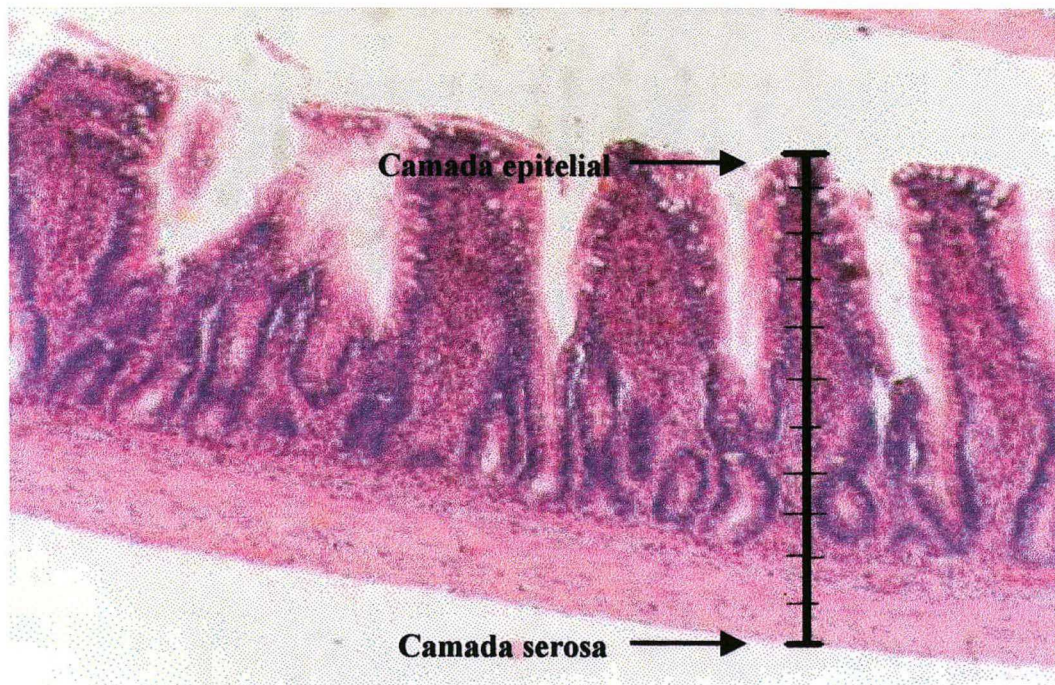


Fig 11: Representação esquemática da mensuração de uma vilosidade da camada serosa até o epitélio (fotomicrografia com objetiva de 10 X).

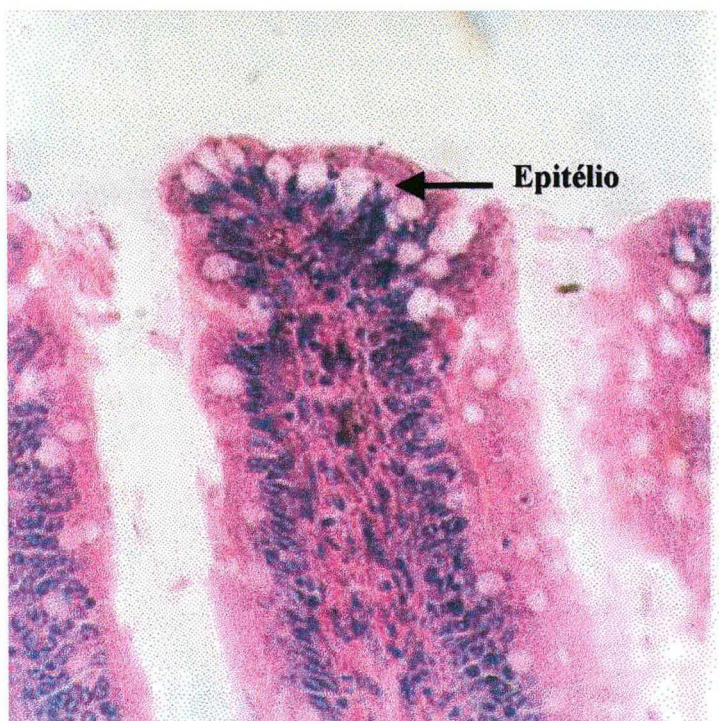


Fig 12: Fotomicrografia com objetiva de 40X mostrando o ápice de uma vilosidade com uma única camada de células epiteliais.

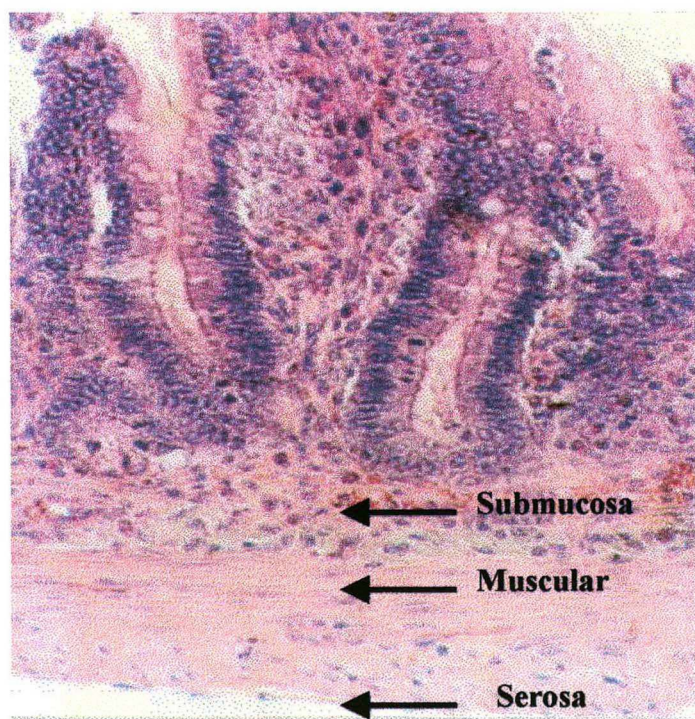


Fig 13: Fotomicrografia com objetiva de 40X mostrando a base de uma vilosidade, com submucosa, camada muscular e serosa.

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Para avaliação da significância estatística dos resultados entre os diferentes grupos foram utilizados os métodos de Análise de Variância (ANOVA) e o teste estatístico de análise de correspondência.

4. RESULTADOS

Com os resultados obtidos na mensuração da altura da camada mucosa e da parede total do intestino em três vilosidades diferentes, foi feita a média aritmética entre os valores encontrados e pôde-se avaliar a reação da sepse e das diferentes formas de tratamento sobre a parede intestinal e sobre a camada mucosa.

A média das medidas do tamanho da mucosa e da parede intestinal distribuídas entre os diversos grupos pode ser avaliada na tabela I.

Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.

Tabela I: Média do tamanho da mucosa e da parede intestinal em micrômetros distribuídos entre os diferentes grupos experimentais.

Grupos	Mucosa (μm)	Parede intestinal (μm)	Número de ratos
C	38,50	48,88	8
D	38,86	49,86	7
LD	39,89	50,22	9
L	34,89	47,11	9
N	39,60	48,10	10
Total	38,34	48,83	43

Quando esses resultados são submetidos ao estudo estatístico de Análise de Variâncias, que compara médias de diferentes grupos, não se identifica diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P > 0,05$).

Quanto à avaliação do tempo de óbito dos animais experimentais, pôde-se observar que dos 40 animais utilizados, 37 evoluíram para o óbito em um período de tempo que variou de 5,83 horas até 28 horas.

Nos grupos controle e lavado + dreno, todos os animais evoluíram para o óbito nas primeiras 24 horas.

No grupo dreno, 9 animais evoluíram para o óbito em até 36 horas, havendo um sobrevivente após esse período.

No grupo lavado houve dois sobreviventes e o tempo de óbito foi de até 28 horas.

A tabela II apresenta o tempo médio de sobrevivência dos animais experimentais que obtiveram êxito letal em até 36 horas, distribuídos entre os diferentes grupos.

Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.

Tabela II: Tempo médio de sobrevivência dos animais que evoluíram para o óbito antes de 36 horas após a inoculação.

Grupo	Tempo médio (hs.)	Desvio padrão
Controle	14,88	2,36
Dreno	15,26	6,41
Lavado	18,21	5,42
Lavado/Dreno	14,31	5,84
Total	15,51	5,19

Estatisticamente, não foi possível ($p > 0,05$) demonstrar diferença entre o tempo médio de óbito dos animais nos diferentes grupos experimentais.

Quando comparados o tempo de óbito dos animais experimentais com a medida da altura da camada mucosa e da parede intestinal, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

O resultado da hemocultura pode ser visualizado na tabela III. Dos 40 animais analisados, em 36 deles (90%) houve crescimento de *Pseudomonas*

aeruginosa na hemocultura e em 21 (52,5%) houve crescimento de *Escherichia coli*.

As figuras 14 e 15 representam graficamente os resultados das hemoculturas encontrados nos 40 animais de experimentação, nos quais foi induzida a sepse.

Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.

Tabela III: Resultado da hemocultura do sangue intracardíaco nos animais experimentais.

Bactérias	Positividade (n° de ratos)	% de positividade	Negatividade (n° de ratos)	% de negatividade
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36	90	4	10
<i>Escherichia coli</i>	21	52,5	19	47,5

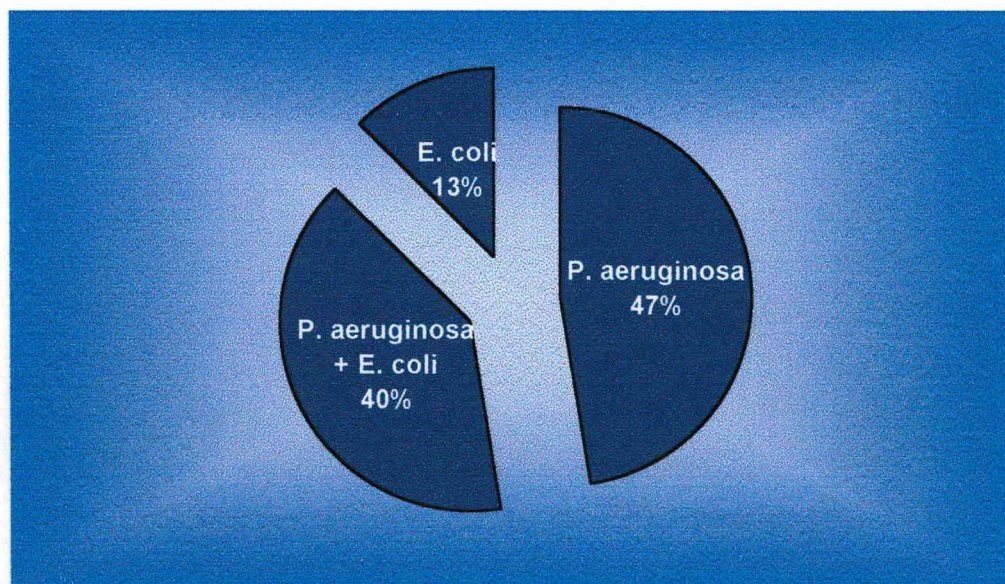


Fig 14: Resultado da hemocultura positiva para *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ou ambas as bactérias em percentual de positividade.

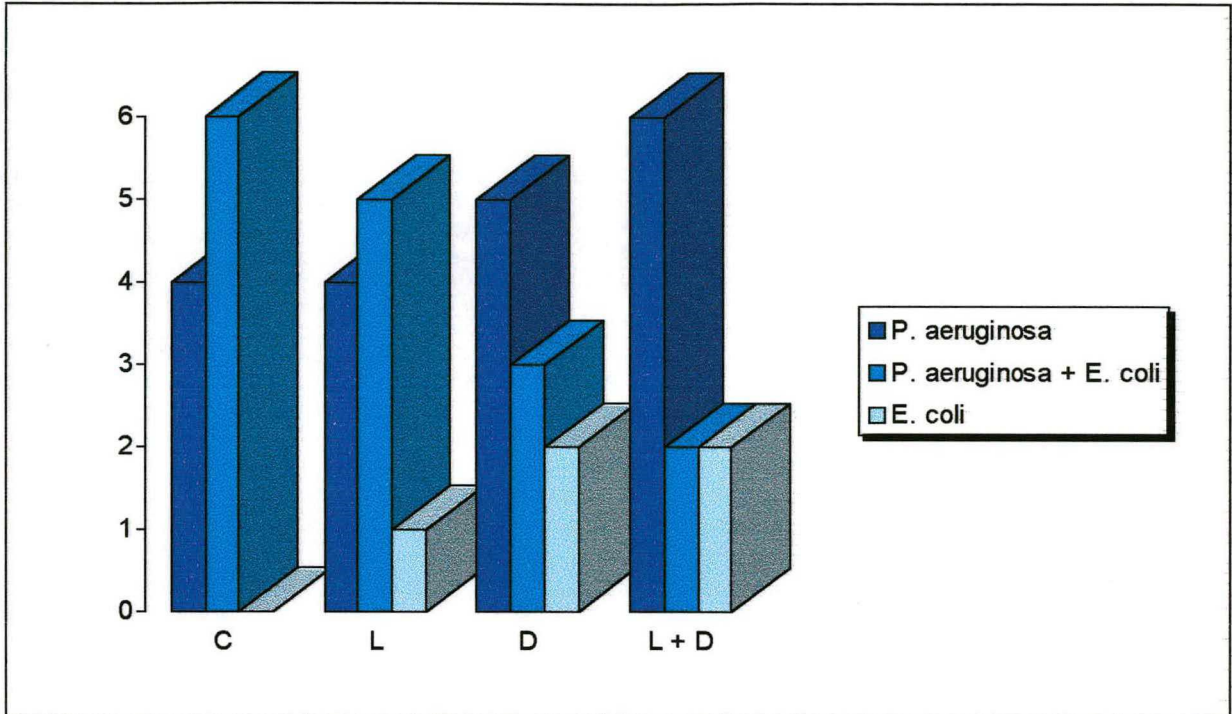


Fig 15: Resultado das hemoculturas positivas de acordo com a distribuição entre os grupos experimentais.

Na cultura peritoneal houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp, conforme a distribuição demonstrada na tabela IV.

Em 35 culturas de peritônio (87,5 %) houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, em 34 (85 %) houve crescimento de *Escherichia coli* e em 2 culturas (5 %), houve crescimento de *Klebsiella* sp.

As figuras 16 e 17 representam graficamente os resultados das culturas peritoneais encontrados nos 40 animais de experimentação nos quais foi induzida a sepse.

Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.

Tabela IV: Resultado da cultura peritoneal do líquido cavitário colhido nos animais experimentais.

Bactérias	Positividade (n° de ratos)	% de positividade	Negatividade (n° de ratos)	% de negatividade
<i>P. aeruginosa</i>	35	87,5 %	5	12,5 %
<i>Escherichia coli</i>	34	85 %	6	15 %
<i>Klebsiella sp</i>	2	5 %	38	95 %

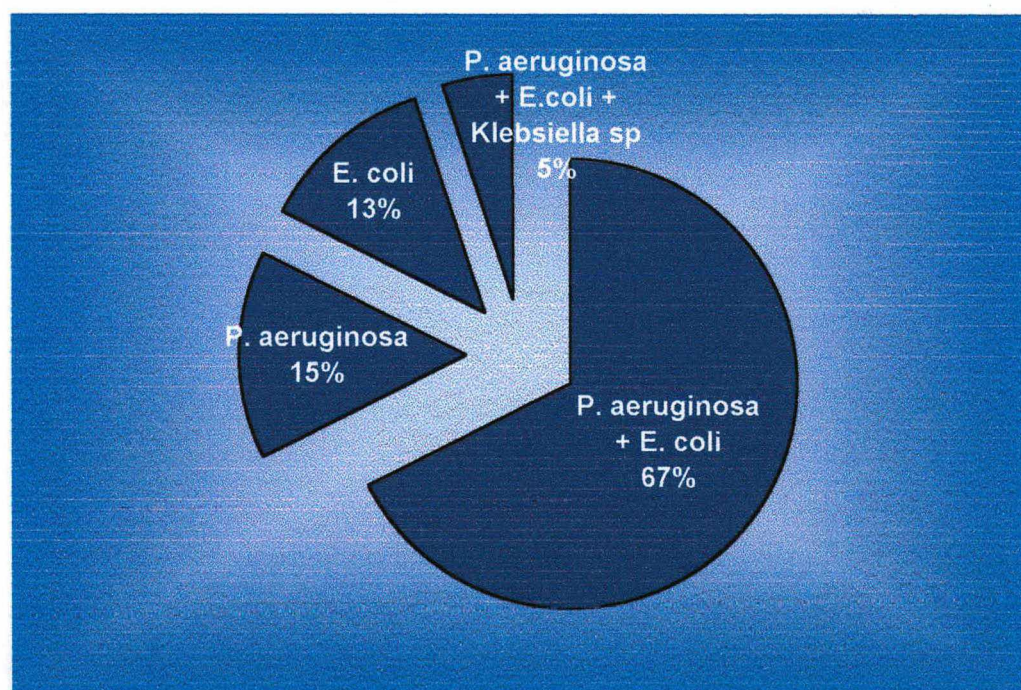


Fig 16: Resultado da cultura peritoneal de acordo com o microorganismo encontrado em percentual de culturas positivas.

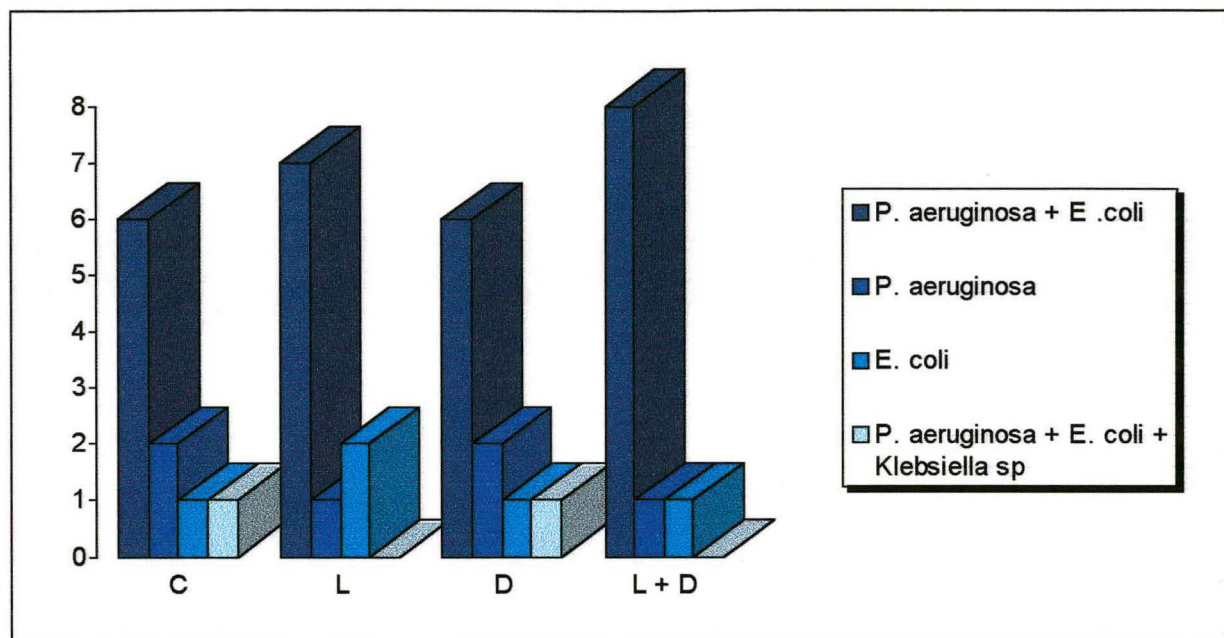


Fig 17: Resultado das culturas peritoneais positivas de acordo com a distribuição entre os grupos experimentais.

Os resultados de hemocultura e cultura peritoneal foram submetidos ao teste estatístico de análise de correspondência, para variáveis qualitativas, que não mostrou significância estatística ($p > 0,05$) entre os diferentes grupos estudados.

Quando comparada a medida das alturas da parede intestinal e da camada mucosa com os achados da hemocultura e cultura peritoneal, não se evidenciou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

5. DISCUSSÃO

O modelo experimental é a principal arma na resolução dos pontos conflitantes a respeito da sepse abdominal. Este é o único método de estudo em que é possível avaliar e controlar o fenômeno séptico como um processo dinâmico, desde a sua instalação até o desenvolvimento da falência terminal dos órgãos e sistemas¹⁷.

Utilizou-se um modelo monobacteriano de indução de sepse por *Pseudomonas aeruginosa*^{17, 26} por ser facilmente reprodutível, de baixo custo, capaz de induzir reações específicas para aquela bactéria e produzir alterações previamente conhecidas por trabalhos anteriores^{17, 27, 28}.

O objetivo do tratamento cirúrgico na peritonite generalizada é eliminar a fonte de infecção bacteriana e prevenir septicemia e sepse abdominal⁶.

Recentemente o trato gastro-intestinal tem assumido maior importância no manuseio e tratamento do paciente séptico. Há bem pouco tempo, o trato gastro-intestinal era considerado um sistema de pouca importância na fisiopatologia da sepse. Acredita-se, atualmente, que o intestino delgado e o colo são responsáveis pela manutenção do hipermetabolismo da sepse, síndrome da resposta inflamatória sistêmica e disfunção de múltiplos órgãos e sistemas²⁹, além de serem identificados como um dos alvos primários de lesão na sepse³⁰.

Sob diversas condições nutricionais e patológicas, o intestino pode sofrer atrofia, comprometendo suas funções essenciais³¹. A atrofia intestinal é manifestada por diminuição do peso da mucosa, redução do conteúdo de DNA e proteína da mucosa e alteração na estrutura da parede intestinal, através da visualização das vilosidades e microvilosidades.

Esses sinais de atrofia podem indicar diminuição da função intestinal de barreira, entretanto isso ainda não foi confirmado em animais de experimentação³².

Para avaliar atrofia da camada mucosa do intestino delgado, a maioria dos trabalhos encontrados utiliza parâmetros morfológicos sob análise patológica. Esses parâmetros incluem arquitetura da parede do trato gastro-intestinal, evidências de congestão ou hemorragia, inflamação de mucosa e submucosa e necrose³³. Entretanto, todos esses parâmetros são subjetivos e dependem da observação do examinador, portanto qualitativos.

A morfometria, quando utilizada para avaliar a atrofia da mucosa do trato gastro-intestinal, torna-se um método objetivo com parâmetros quantitativos específicos, e não só qualitativos, apresentando evidência histológica clara de lesão da mucosa. Um dos parâmetros utilizados, é a mensuração da espessura da camada mucosa intestinal, com ênfase para o tamanho das vilosidades.

Yassin, M; Barros, A; Parks, T et al³⁴, utilizando um método de isquemia e reperfusão, compararam a análise morfológica com a análise morfométrica da parede do intestino delgado. Foram encontradas nítidas alterações de tamanho nas vilosidades da camada mucosa na ausência de alterações morfológicas na microscopia óptica, concluindo que a morfometria tem uma sensibilidade maior que a análise morfológica no intestino delgado.

Além da sepse³⁵, a análise morfométrica também é utilizada em modelos experimentais de isquemia do trato gastro-intestinal³⁴, nutrição parenteral³⁶, e colite^{25, 37}.

Os trabalhos mais recentes³⁴⁻³⁶ utilizam, para avaliar morfometricamente a altura da camada mucosa, imagens digitalizadas do microscópio óptico que são analisadas por um programa de computador específico.

O método de morfometria utilizado neste experimento é semelhante ao método utilizado por Nascimento, A; Silva, L; Oliveira, A et al²⁵ e por Myers, J;

Hollinger, E; Mall, J et al³⁷, utilizando, para mensuração da altura das vilosidades, uma régua adaptada à lente ocular do microscópio óptico.

Farges, M; Raul, F; Cezard, J et al³⁵, utilizando lipopolissacarídeos (LPS) de *Escherichia coli* para induzir endotoxemia em ratos encontraram uma diminuição da altura das vilosidades no íleo. Entretanto, a altura das vilosidades do jejuno não se alterou, assim como a profundidade das criptas, tanto no jejuno quanto no íleo.

Yassin, M; Barros, A; Parks, T et al³⁴ utilizaram um método de isquemia/reperfusão dos membros inferiores de ratos e avaliaram morfometricamente a altura da parede do intestino delgado e do colo. Esse trabalho encontrou diminuição da mucosa total e das vilosidades apenas no intestino delgado do grupo que foi reperfundido por 2 a 3 horas após a isquemia, não encontrando alterações no colo ou no grupo que sofreu apenas isquemia dos membros inferiores, sem reperfusão. Concluiu que uma lesão isolada em um órgão distante do trato gastro-intestinal pode causar alterações na mucosa e, provavelmente, alterar a permeabilidade intestinal.

Nakka, S; Saito, H; Hashiguchi, Y et al³⁶, utilizando duas formas de nutrição parenteral total (NPT) após sepse por *E. coli* em ratos, encontraram alterações no tamanho da mucosa apenas no íleo terminal, não encontrando alterações no jejuno, ou nos pontos médios do intestino delgado ou do colo.

Esses trabalhos suportam a hipótese de que a mucosa do intestino delgado é mais responsiva a alterações tanto experimentais quanto clínicas, quando comparada com a mucosa do intestino grosso³⁸.

No presente trabalho, foi avaliada apenas a altura da camada mucosa e da parede intestinal do jejuno. Assim como na literatura, no jejuno não houve alterações evidentes na parede intestinal que pudessem ser avaliadas à luz da microscopia óptica.

Suspeita-se que essa maior resistência à lesão do jejuno, quando comparada ao íleo ou ao colo, seja decorrente de uma maior vascularização desse segmento e de uma menor população bacteriana, havendo maior proteção contra a lesão isquêmica.

A exata fisiopatologia da lesão na mucosa do intestino delgado ainda não está completamente elucidada.

A maioria da literatura acredita que a sepse e o choque séptico ocasionam uma diminuição importante da resistência vascular sistêmica e uma má distribuição do fluxo sanguíneo no organismo³⁹, causando portanto, hipoperfusão com provável isquemia.

Essa redistribuição do fluxo sanguíneo privilegiaria áreas mais nobres como o cérebro e os rins em detrimento de órgãos como o trato gastro-intestinal, pâncreas e, em menor proporção, a musculatura esquelética^{30, 40-43}.

Esse regime de isquemia, associado ao estado de hipermetabolismo próprio da sepse levaria à atrofia da mucosa.

Zabel, D; Hopf, H; Hunt, T⁴⁴ em 1995, demonstraram que existe um gradiente entre a pO_2 da mucosa e a pO_2 da serosa do trato gastro-intestinal e que essa diferença se agrava em regimes de hipoperfusão.

Com base nessas teorias, pode-se concluir que a sepse gera uma redistribuição do fluxo para fora da circulação esplâncnica e para longe da mucosa, tornando as vilosidades do intestino delgado o principal alvo da lesão isquêmica.

A outra causa de lesão mucosa, provavelmente associada à hipoperfusão, é a pobre extração e utilização dos nutrientes (principalmente aminoácidos como a glutamina) pela mucosa do trato gastro-intestinal, apesar das taxas normais de O_2 ⁴⁵. A glutamina é a principal fonte de energia para os enterócitos³⁸ e na sepse ou endotoxemia a glutamina intestinal está reduzida, podendo causar alterações metabólicas locais e conseqüentemente atrofia mucosa³⁶.

A translocação bacteriana foi primeiramente descrita em animais de experimentação e confirmada através da detecção de bactérias viáveis na cavidade peritoneal após peritonite química em cães¹². Desde então inúmeros trabalhos tem sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar a relação entre a translocação bacteriana e a sepse.

Para avaliar a translocação bacteriana, são utilizados métodos de cultura de diferentes sítios extra-intestinais. Os métodos mais comumente usados na literatura são cultura de líquido peritoneal, cultura de homogeneizado de linfonodos mesentéricos, fígado e baço, cultura de sangue venoso da veia porta e sangue venoso periférico e detecção de endotoxinas no sangue venoso portal e periférico^{12, 19, 46, 47}.

Também são utilizadas técnicas *in vitro* nas quais a mucosa é evertida e é avaliada a permeabilidade dessa mucosa com substâncias marcadas previamente³⁴.

Wells, C; Maddaus, M; Simmons, R et al⁴⁸ questionam a validade da cultura de linfonodos mesentéricos, já que a presença de bactérias nesses tecidos pode refletir a sua função fisiológica normal, sendo necessária para a produção de células imunocompetentes.

Em modelos animais de avaliação de translocação bacteriana, raramente as hemoculturas são positivas¹². Suspeita-se que isso ocorra em virtude dos mecanismos de defesa dos macrófagos pulmonares e hepáticos contra microorganismos. O pulmão eliminaria os microorganismos do sangue venoso central enquanto o fígado agiria no sistema venoso portal⁴⁹⁻⁵¹. Esse mecanismo de defesa dos macrófagos hepáticos (células de Kupffer), apesar de tentar eliminar os microorganismos, ativa a produção de citocinas que modulam e amplificam a resposta inflamatória sistêmica, indiretamente contribuindo para a DMOS⁵².

Sodeyama, M; Gardiner, K; Regan, M et al⁴⁷, utilizando um modelo de ligadura e punção do ceco para indução de sepse em ratos, avaliaram hemocultura e cultura do líquido peritoneal. Os microorganismos mais frequentemente encontrados foram: *Escherichia coli*, enterococos do grupos D, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens* e *Enterobacter cloacae*. Entretanto, os achados na cultura do líquido peritoneal não podem ser considerados como decorrentes da translocação bacteriana, visto que há uma quebra total da barreira intestinal durante a punção cecal.

No trabalho realizado, como resultado da hemocultura, foi obtido o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* em 90% dos ratos e *Escherichia coli* em 52,5% dos ratos. Na cultura do líquido peritoneal, houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp no percentual de 87,5%, 85% e 5%, respectivamente.

No método de indução de sepse utilizado no presente estudo não há solução de continuidade da parede intestinal visualizável macroscopicamente. Como, teoricamente, a técnica operatória e o modo de coleta das secreções para realização das culturas foram realizadas de modo asséptico, aparentemente, a única explicação para os resultados positivos das culturas é a translocação bacteriana através da barreira intestinal.

Apesar dos métodos de cultura serem amplamente utilizados na literatura, o isolamento de microorganismos entéricos em sítios extra-intestinais sugere fortemente, mas não prova a translocação bacteriana. Para isso, são utilizados marcadores para bactérias e endotoxinas como C¹⁴, I¹¹¹ e plasmídeos^{19,22,34}. Entretanto, o uso de radioisótopos, apesar de mais confiável que a cultura simples, ainda apresenta falhas decorrentes da absorção sistêmica da radioatividade.

Kazantsev, G; Hecht, D; Rao, R et al¹⁹, para confirmar a presença de translocação bacteriana em cães com pancreatite, utilizaram um método de

descontaminação intestinal e recolonização da luz com *Escherichia coli* marcada com plasmídeo pUC4K. Após a indução da pancreatite, foram colhidas amostras de líquido peritoneal, linfonodos mesentéricos e fragmentos de fígado e baço e submetidos a cultura. Nas culturas positivas, foi utilizada uma sonda de DNA para comprovar que a bactéria encontrada no sítio extra-intestinal era a mesma bactéria que recolonizou o intestino. Na literatura pesquisada, esse foi o único trabalho que realmente prova a presença de translocação bacteriana.

A ocorrência de translocação bacteriana espontânea tem sido demonstrada em seres humanos e em animais de experimentação⁴⁶, entretanto essa incidência aumenta consideravelmente na presença de uma doença do trato gastro-intestinal. Em organismos hígidos, suspeita-se que a translocação bacteriana ocorra em pequena monta, o suficiente para não haver repercussões clínicas³³. Nesse caso, o sistema imune possui papel fundamental, impedindo a disseminação da infecção.

Sedman, P; MacFie, J; Sagar, P⁵³ investigaram a prevalência de translocação bacteriana em humanos. De 242 pacientes, foi encontrada translocação em 25 deles, 22 dos quais possuíam doença do trato gastro-intestinal baixo confirmada. Além disso, a translocação bacteriana estava associada a uma alta incidência de sepse pós-operatória. Entretanto, os microorganismos isolados nas cultura para avaliação de translocação bacteriana raramente estavam correlacionados com aqueles causadores da sepse.

Inúmeros trabalhos estão sendo realizados com o objetivo de avaliar qual a exata alteração que ocorre na barreira intestinal na presença de uma doença do trato gastro-intestinal.

A alteração patológica mais frequentemente aventada como causa do defeito na barreira intestinal é a atrofia da mucosa. Entretanto, muitos estudos vem tentando demonstrar a influência de outros fatores, que não a atrofia mucosa, como causa da translocação bacteriana.

Brewster, D; Manary, M; Menzies, I et al⁵⁴, em 1997, avaliaram a presença de sepse de origem abdominal em crianças desnutridas, considerando como causa da sepse a translocação de microorganismos da luz intestinal para sítios extra-intestinais. Encontraram uma relação direta entre desnutrição e sepse. Os autores concluíram que a atrofia das vilosidades e o aumento da celularidade da lâmina própria encontrados nas biópsias de pacientes desnutridos estavam diretamente relacionados com um maior índice de translocação bacteriana e sepse. Nesse trabalho, as lesões encontradas nas biópsias de intestino delgado são decorrentes quase que exclusivamente da desnutrição.

Nesse caso, a causa da atrofia da mucosa é a diminuição do aporte de nutrientes, principalmente aminoácidos e não uma lesão isquêmica. No presente trabalho não houve redução da oferta de aminoácidos na luz intestinal, o que pode, em parte, manter a integridade da mucosa.

Mishima, S; Xu, D; Lu, Q et al⁵⁵ utilizaram um modelo de endotoxemia induzida por injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* em ratos. Nesse trabalho, foi estudado o efeito da inibição do óxido nítrico (NO) na mucosa intestinal do íleo e a relação com a translocação bacteriana. A inibição da produção de NO causou menos lesão mucosa e menos translocação bacteriana. O trabalho demonstrou que a inibição do NO previne isquemia intestinal, causando menos atrofia mucosa e conseqüentemente menos translocação bacteriana.

Esse trabalho estudou apenas o íleo, utilizando uma avaliação morfológica na microscopia óptica. No presente experimento, foi utilizado um método de avaliação de maior sensibilidade (morfometria), entretanto, foram utilizadas apenas amostras de jejuno, provavelmente menos responsivas a lesões hipóxicas.

Gianotti, L; Alexander, J; Fukushima, R et al⁵⁶ avaliaram a translocação de *Candida albicans* através da parede intestinal em grupos de vilosidades com

diferentes níveis de perfusão sanguínea. Concluíram que quanto maior o fluxo sanguíneo para as vilosidades, menor a lesão que ocorre na mucosa e menor é o índice encontrado de translocação de *Candida albicans*.

Tenenhaus, M; Hansbrought, J; Zapata-Sirvent, R et al⁵⁷, utilizando um modelo de sepse abdominal em camundongos, avaliaram a influência da câmara hiperbárica com oxigênio a 100% sobre a morfologia intestinal mucosa e translocação bacteriana. Como resultado, encontraram que a hiperoxia tem efeito protetor na barreira mucosa, mantendo a integridade da mucosa na microscopia óptica e reduzindo a translocação bacteriana. Concluíram que a hiperoxia reduz a isquemia intestinal, protegendo a mucosa e reduzindo os níveis de translocação bacteriana. Esse trabalho foi repetido por Gennari, R; Alexander, J²² em 1996 que encontraram resultados semelhantes.

Os estudos que afirmam não existir relação entre atrofia mucosa e translocação bacteriana, procuram encontrar outros fatores que possam ser responsáveis pela passagem de bactérias da luz intestinal para a circulação sistêmica. Os fatores mais comumente aventados como causa de translocação bacteriana nesses trabalhos incluem alterações na microflora intestinal, alterações no sistema imune do hospedeiro, alterações químicas e físicas do muco intestinal e da mucina e alterações da aderência bacteriana à mucosa do trato gastro-intestinal^{19, 58}.

Katayama, M; Xu, D; Specian, R et al⁵⁸ compararam a lesão mucosa intestinal e a translocação bacteriana em dois grupos experimentais de ratos: um grupo foi submetido a desnutrição protéica e outro a endotoxemia com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. A lesão foi avaliada pela quantidade de muco, mucina e proteína encontrada na mucosa. A translocação bacteriana foi avaliada pela cultura de um homogeneizado de linfonodos mesentéricos. No grupo submetido a desnutrição protéica, foi encontrada lesão de maior intensidade na mucosa do intestino delgado e pouca translocação bacteriana. No

grupo submetido a endotoxemia, foi encontrada pouca intensidade de lesão mucosa e uma grande quantidade de translocação bacteriana. Os autores concluem que a atrofia mucosa e a barreira intestinal contra ascensão de microorganismos não estão necessariamente relacionadas e outros fatores devem estar envolvidos na barreira intestinal biológica.

McCauley, R; Heel, K; Christiansen, K et al¹¹ estudaram o efeito da nutrição enteral mínima em ratos submetidos a nutrição parenteral total (NPT). Consideraram que a NPT está associada a atrofia de mucosa do trato gastrointestinal e que essa atrofia aumenta a taxa de translocação bacteriana. A lesão mucosa foi avaliada pela mensuração do conteúdo de proteína na mucosa de um segmento de jejuno. A translocação bacteriana foi comprovada pela cultura de homogeneizados de mesentério, fígado e baço em meio ágar MacConkey. A nutrição enteral mínima em ratos sob NPT pareceu reduzir a extensão da atrofia mucosa, quando comparados com ratos que não receberam nutrição enteral mínima. Entretanto, essa diferença não afetou a incidência de translocação bacteriana. Foi concluído que não há relação entre atrofia mucosa por NPT e incidência de translocação bacteriana.

Esses trabalhos reafirmam a necessidade da manutenção de um trânsito intestinal mínimo para prevenir a atrofia mucosa. A atrofia mucosa em casos de desnutrição e NPT seria decorrente de uma não utilização das vilosidades, tanto mecânica quanto absortivamente e da redução dos nutrientes intraluminais para os enterócitos. Por outro lado, as lesões intestinais decorrentes da sepse são bem menos evidentes histologicamente, visto que não há desuso do trato gastrointestinal.

Na literatura consultada, apenas um estudo associou tamanho da mucosa e translocação bacteriana em humanos. Foram avaliadas as alturas da superfície mucosa em biópsias de 58 pacientes, não encontrando diferença entre pacientes com e sem translocação bacteriana ⁵⁹.

No presente trabalho, não houve diferença entre os tamanhos das paredes intestinais e das mucosas entre os diversos grupos. Nesse caso, pode-se afirmar que a sepse não causou alterações visualizáveis à microscopia óptica na mucosa intestinal.

No experimento realizado, o grupo lavado foi o que apresentou maior tempo de sobrevivência (média de 18,21 horas). O grupo lavado mais dreno apresentou menor tempo de sobrevivência (média de 14,31 horas), talvez pelo excesso de manipulação do animal. Apesar desses resultados, não foi possível demonstrar, com significância estatística, alterações quanto ao tempo de óbito entre os grupos.

A atrofia da mucosa o trato gastro-intestinal (principalmente intestino delgado) na sepse é amplamente discutida na literatura^{22, 36, 48, 56}. Entretanto, todos os trabalhos consultados utilizam métodos de indução de sepse que causam alterações lentas no organismo, tornando o tempo de sobrevivência mais prolongado. No método utilizado de indução de sepse com *Pseudomonas aeruginosa*, o tempo de sobrevivência médio entre todos os grupos foi de 15,5 horas, provavelmente não havendo tempo de evolução suficiente para causar uma atrofia de mucosa visualizável na microscopia óptica.

Apesar das críticas encontradas na literatura acerca do método de avaliação da translocação bacteriana com culturas de sangue e líquido peritoneal, uma grande parcela dos trabalhos ainda os utiliza para avaliar a permeabilidade da mucosa aos microorganismos. Sendo a técnica asséptica utilizada adequada para obtenção de material para cultura, pode-se considerar os resultados da hemocultura e da cultura do líquido peritoneal como resultantes do processo de translocação bacteriana.

Considerando os resultados da análise morfométrica da parede do jejuno, não se pode afirmar que os achados das culturas sejam decorrentes de uma

lesão na parede intestinal. Neste caso, deve haver outros fatores, além da atrofia mucosa, que propiciem ou facilitem a translocação bacteriana.

A hipótese da relação entre translocação bacteriana e aumento da permeabilidade intestinal por lesão mucosa ainda não está definida, assim como não está completamente definida a relação entre a translocação bacteriana e a disfunção de múltiplos órgãos e sistemas.

Mais estudos são necessários para avaliar essas relações, visto que futuramente, a prevenção da translocação bacteriana pode fazer parte do arsenal terapêutico do paciente séptico. Essa forma de tratamento teria como objetivo reduzir a ocorrência de complicações infecciosas e de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas em pacientes gravemente enfermos.

6. CONCLUSÕES

1. A sepse aguda não causou alteração na parede intestinal ou na camada mucosa do intestino delgado.
2. A translocação ocorrida não pode ser considerada como decorrente de uma lesão da mucosa intestinal.

7. REFERÊNCIAS

1. Doberneck RC, Mittelman J. Reappraisal of the problems of intra-abdominal abscess. *Surg Gynecol Obstet* 1982, 154:875-9.
2. Steinberg D. On leaving the peritoneal cavity open in acute generalized suppurative peritonitis. *Am J Surg* 1979, 137: 216-20.
3. Leiboff AR, Soroff HS. The treatment of generalized peritonitis by closed postoperative peritoneal lavage. *Arch Surg* 1987, 122: 1005-10.
4. Pitcher WD, Musher DM. Critical importance of early diagnosis and treatment of intra-abdominal infection. *Arch Surg* 1982, 117: 328-33.
5. Marik, P.E.; Varon, J. – The hemodynamic derangements in sepsis: implications for treatment strategies. *Chest*, 114(3): 854-860, 1998.
6. Hunt JL. Generalized peritonitis. *Arch Surg* 1982, 117: 209-11.
7. Bohnen JMA, Mustard RA. A critical look at scheduled relaparotomy for secondary bacterial peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 1993, 172: 25-9.
8. Buanes TA, Gunnar PA, Ulf J, Knut N. Perforated appendicitis with generalized peritonitis. *Eur. J. Surg* 1991, 157: 277-9.
9. Stephen M, Loewenthal MS. Continuing peritoneal lavage in high-risk peritonitis. *Surgery* 1979, 85(6): 603-6.
10. Hedderich GS, Marvin JW, McLean H, Meakins JL. The septic abdomen: Open management with Marlex mesh with a zipper. *Surgery* 1986, 99(4): 399-407.
11. McCauley RD, Heel KA, Christiansen KJ, Hall JC. The effect of minimum luminal nutrition on bacterial translocation and atrophy of the jejunum during parenteral nutrition. *J Gastroenterol Hepatol* 1996, 11(1): 65-70.
12. Lemaire, LCJM, Van Lanschot JJB, Stoutenbeek CP, Van Deventer SJH, Wells CL, Gouma DJ. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or epiphenomenon still unproven. *Br J Surg* 1997, 84(10): 1340-50.
13. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990, 212: 496-512.
14. Wells CL, Maddaus MA, Simmons RL. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. *Rev Infect Dis* 1988, 10: 958-79.

15. Steffen EK, Berg RD, Deitch EA. Comparison of translocation rates of various indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph node. *J Infect Dis* 1988, 157: 1032-8.
16. Wells CL, Maddaus MA, Reynolds CM, Jechorek RP, Simmons RL. Role of anaerobic flora in the translocation of aerobic and facultatively anaerobic intestinal bacteria. *Infect Immun* 1987, 55: 2689-94.
17. d' ACAMPORA AJ. Avaliação histológica da sepse experimental em ratos Wistar [Tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, 1990. 109p.
18. Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. *Arch Surg* 1990, 125: 403-4.
19. Kazantsev GB, Hecht DW, Rao R, Fedorak IJ et al. Plasmid labeling confirms bacterial translocation in pancreatitis. *Am J Surg* 1994, 167(1): 201-7.
20. Van Leewuwen PAM, Boermeester MA, Houdijk APJ et al. Clinical significance of translocation. *Gut* 1994, 35(Supl. 1): S28-34.
21. Rowlands BJ, Soong CV, Gardiner KR. The gastrointestinal tract as a barrier in sepsis. *Br Med Bull* 1999, 55(1): 196-211.
22. Gennari R, Alexander JW. Effects of hyperoxia on bacterial translocation and mortality during gut-derived sepsis. *Arch Surg* 1996, 131(1): 57-62.
23. Fukushima R, Alexander JW, Gianotti L, Ogle CK. Isolated pulmonary infection acts as a source of systemic tumour necrosis factor. *Crit Care Med* 1994, 22: 114-20.
24. Ely PB, d'Acampora AJ, Miltersteiner AR, Hoff FC. Dispositivo do tipo collar cervical para proteção de ferida operatória abdominal em ratos. *Acta Cir Bras* 1997, 12(Supl. 2): S15-6.
25. Nascimento AJE, Silva LRF, Oliveira AF, Silva MHG. Enhanced mucosal re-epithelization induced by short chain fatty acids in experimental colitis. *Braz J Med Biol Res* 1999, 32(8): 961-6.
26. Carvalho ROM, d'Acampora AJ, Albuquerque MM, Silva MT, Gerente MM, Aust JR. Modelo monobacteriano de indução de sepse. *Acta Cir Bras* 1998, 13 (Supl.1): S108.
27. Bonin GS, d'Acampora AJ, Matte ELA, Souza JL, Albuquerque MM, Silva MT. Avaliação da sepse bacteriana experimental de origem peritoneal tratada com antibiótico sistêmico – Repercussão histopatológica no rim. *Acta Cir Bras* 1998, 13(Supl. 1): S106.

28. Gerente MM, Ortellado DK, Carvalho ROM, Bonin GS, Santana LK, d'Acampora AJ. Dreno, Lavado em peritonite experimental em ratos Wistar. *Rev Col Bras Cir* 1999; 26(Supl 1): S395.
29. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potencial future therapy. *Ann Surg* 1992; 216: 117-34.
30. Duranteau J, Sitbon P, Teboul JL, Vicaut E, Anguel N, Richard C, et al. Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27(5):893-900.
31. Baracos VE, Samuels SE, Adegoke OAJ. Anabolic and catabolic mediators of intestinal protein turnover: a new experimental approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3(3): 183-9.
32. Deitch EA. Bacterial translocation of the gut flora. *J Trauma* 1990; 30: 184-9.
33. Kalff JC, Schraut WH, Simmons RL, Bauer AJ. Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus. *Ann Surg* 1998, 228(5): 652-63.
34. Yassin MMI, Barros AAB, Parks TG, McCaigue, MD, Leggett P, Halliday MI, et al. Lower limb ischaemia-reperfusion injury alters gastrointestinal structure and function. *Br J Surg* 1997, 84(10): 1425-29.
35. Farges MC, Raul F, Cezard JP, Davot P, Meunier MT, Cynober L, et al. A pancreatic extract-enriched diet corrects ileal mucosa atrophy in endotoxemic aged rats. *Dig Dis Sci* 1998, 43(10): 2244-50.
36. Naka S, Saito H, Hashiguchi Y, Lin MT, Furakawa S, Inaba T et al. Alanylglutamine-enriched total parenteral nutrition improves protein metabolism more than branched chain amino acid-enriched total parenteral nutrition in protracted peritonitis. *J Trauma* 1997, 42(2): 183-90.
37. Myers JA, Hollinger EF, Mall JW, Jakate SM, Doolas, A, Saclarides TJ. Mechanical, histologic, and biochemical effects of canine rectal formalin instillation. *Dis Colon Rectum* 1998, 41(2): 153-8.
38. Alpers DH. Is glutamine a unique fuel for small intestinal cells? *Curr Opin Gastroenterol* 2000, 16(2): 155.
39. Vincent P, Colombel JF, Lescut D. Bacterial translocation in patients with colorectal cancer. *J Infect Dis* 1988, 158: 1395-6.
40. Winslow C, Dorinski PM. Regional blood flow distribution in endotoxin-treated dogs: modification by ibuprofen. *J Crit Care* 1994, 9: 159-68.

41. Fink MP, Cohn SM, Lee P. Effect of lipopolysaccharide on intestinal intramucosal hydrogen ion concentration in pigs: evidence of gut ischemia in a normodynamic model of septic shock. *Crit Care Med* 1989, 17: 641-6.
42. Marik PE, Varon J. The hemodynamic derangements in sepsis: Implications for treatment strategies. *Chest* 1998, 114(3): 854-60.
43. Lam C, Tyml K, Martin C, Sibbald W. Microvascular perfusion is impaired in a rat model of normotensive sepsis. *J Clin Invest* 1994, 94(5): 2077-83.
44. Zabel DD, Hopf HW, Hunt TK. Transmural gut oxygen gradients in shocked rats resuscitated with heparan. *Arch Surg* 1995, 130: 59-63.
45. Fiddian-Green RG. The role of gut in shock and resuscitation. *Clin Intensive Care* 1992, 3(Supl. 1): S5-11.
46. Kale TI, Kuzu MA, Tekeli A, Tank A, Aksoy M, Cete M. Aggressive bowel preparation does not enhance bacterial translocation, provided the mucosal barrier is not disrupted: A prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum* 1998, 41(5): 636-41.
47. Sodeyama M, Gardiner KR, Regan MC, Kirk SJ, Efron G, Barbul A. Scientific papers: Sepsis impairs gut amino acid absorption. *Am J Surg* 1993, 165(1): 150-4.
48. Wells CL, Maddaus MA, Simmons RL. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. *Rev Infect Dis* 1988, 10: 958-79.
49. Shou J, Lappin J, Daly JM. Impairment of pulmonary macrophage function with total parenteral nutrition. *Ann Surg* 1994, 219: 291-7.
50. Nieuwenhuijzen GAP, Haskel Y, Lu Q. Macrophage elimination increases bacterial translocation and gut-origin septicemia but attenuates symptoms and mortality rate in a model of systemic inflammation. *Ann Surg* 1993, 218: 791-9.
51. Nolan JP. Endotoxin, reticuloendothelial function, and liver injury. *Hepatology* 1981, 1: 458-65.
52. Van Leeuwen PAM, Boermeester MA, Houdijk APJ. Clinical significance of translocation. *Gut* 1994, 35(Supl. 1): S28-34.
53. Sedmam PC, MacFie J, Sagar P. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology* 1994, 107: 643-9.
54. Brewster D, Manary M, Menzies I, O'Loughlin EV, Henry RL. Intestinal permeability in kwashiorkor. *Arch Dis Child* 1997, 76(3): 236-41.

55. Mishima S, Xu D, Lu Q, Deitch EA. The relationships among nitric oxide production, bacterial translocation, and intestinal injury after endotoxin challenge in vivo. *J Trauma* 1998, 44(1): 175-82.
56. Gianotti L, Alexander JW, Fukushima R, Childress C. Translocation of *Candida albicans* is related to the blood flow of individual intestinal villi. *Circ Shock* 1993, 40:250-7.
57. Tenenhaus M, Hansbrough JF, Zapata-Sirvent R, Neumann T. Treatment of burned mice with hyperbaric oxygen reduces mesenteric bacteria but not pulmonary neutrophil deposition. *Arch Surg* 1994, 129: 1338-42.
58. 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* 1997, 225(3): 317-26.
59. 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(12): 1663-7.

NORMAS ADOTADAS

1. **NORMATIZAÇÃO PARA OS TRABALHOS DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA.** Resolução nº 001/99 do colegiado do curso de graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1999.
2. **COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.** Os princípios éticos da experimentação animal.
3. **INTERNATIONAL ANATOMICAL NOMENCLATURE COMMITTEE –**
Nomina anatomica. 5. ed. Rio de Janeiro, Medsi, 1987, 110p.
4. **INTERNATIONAL ANATOMICAL NOMENCLATURE COMMITTEE –**
Nomina histologica. 2. ed. New York, Ithaca, 1983, 60p.

RESUMO

Introdução: Suspeita-se que a lesão mucosa do intestino delgado facilite a translocação bacteriana. Entretanto, vários trabalhos demonstram a necessidade de outros fatores para a sua ocorrência na sepse.

Objetivo: Avaliar histologicamente a mucosa intestinal de ratos após sepse.

Método: Foram utilizados 50 ratos distribuídos em grupos da seguinte forma:

1. Controle (n = 10): injeção de inóculo padrão de *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Dreno (n = 10): injeção do inóculo padrão e drenagem da cavidade abdominal, após 6 horas.
3. Lavado (n = 10): injeção do inóculo padrão e lavagem da cavidade abdominal, após 6 horas.
4. Lavado + dreno (n = 10): injeção do inóculo padrão e após 6 horas, drenagem e lavagem da cavidade.
5. Normal (n = 10): avaliação histológica da parede intestinal normal.

Após o óbito, realizou-se hemocultura e cultura peritoneal. Foram retirados fragmentos de jejuno de forma padrão.

Foi realizada medida da espessura total da parede do jejuno e da camada mucosa em uma vilosidade seccionada de forma longitudinal.

Resultados: Na hemocultura, houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* em 90% e 52,5% dos animais, respectivamente.

Na cultura peritoneal, houve crescimento de *P. aeruginosa*, *E. coli* e *Klebsiella* sp em 87,5%, 85% e 5% dos animais, respectivamente.

Quanto a altura da camada mucosa e da parede intestinal, não houve alteração estatisticamente significativa entre os 5 grupos.

Conclusões: A sepse aguda não causou alteração na camada mucosa do intestino delgado.

A translocação ocorrida não pode ser considerada como decorrente de uma lesão da mucosa intestinal.

SUMMARY

Introduction: In acute sepsis it is suspected that the small intestine's mucosa injury facilitates bacterial translocation. However, several works demonstrated the occurrence of other factors, besides mucosal injury, for bacterial translocation in sepsis.

Objective: Histological evaluation of the intestinal mucosa of rats after sepsis using morphometric analysis.

Method: 50 adult female rats were distributed in groups in the following order:

1. Control (n = 10): intraperitoneal injection of *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Drainage (n = 10): intraperitoneal injection of *P. aeruginosa* and drainage of the abdominal cavity, after 6 hours.
3. Washed (n = 10): intraperitoneal injection of *P. aeruginosa* and washing of the abdominal cavity, after 6 hours.
4. Washed + drainage (n = 10): intraperitoneal injection of *P. aeruginosa* plus drainage and washing of the cavity, after 6 hours
5. Normal (n = 10): evaluation of the normal intestinal wall.

After death, blood culture and peritoneal culture was performed. Fragments of jejunum were removed and processed histologically for morphometric measure of the total thickness of the jejunum's wall in comparison to the thickness of the mucosa + submucosa layer.

Results: In blood culture, there was growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in 90% and 52,5% of the animals, respectively.

In the peritoneal culture, there was growth of *P. aeruginosa*, *E. coli* and *Klebsiella* sp in 87,5%, 85% and 5% of the animals, respectively.

About the histological analysis and the thickness of the mucosa + submucosa's layer, there was not significant alteration among the 5 groups.

Conclusions: Acute sepsis did not develop any thickness alteration in the small intestine's mucosa layer. Bacterial translocation can not be a direct consequence produced only by mucosal intestinal injury.

APÊNDICE

Estudo histológico da mucosa intestinal após a indução de sepse abdominal em ratos Wistar.

Tabela apêndice: Resultado dos protocolos utilizados no experimento com tempo de óbito em horas, tamanho da mucosa e da parede total em micrômetros e resultado da hemocultura (hemo) e da cultura peritoneal (per), 1 = presença, 0 = ausência (P = *Pseudomonas aeruginosa*, E = *Escherichia coli* e K = *Klebsiella* sp).

GRUPO	ÓBITO (hs)	Tam. mucosa (μm)	Tam. total (μm)	P_hemo	E_hemo	P_per.	E_per.	K_per.
C	14,3	32	44	1	0	1	1	0
C	19,9	43	55	1	1	0	1	0
C	12	34	45	1	1	1	1	0
C	15,2	50	59	1	1	1	1	0
C	13,8	32	40	1	0	1	0	0
C	13,7	32	43	1	0	1	0	0
C	16,9	44	54	1	1	1	1	0
C	12	41	51	1	1	1	1	0
N	-	38	45	-	-	-	-	-
N	-	37	44	-	-	-	-	-
N	-	42	52	-	-	-	-	-
N	-	40	52	-	-	-	-	-
N	-	46	55	-	-	-	-	-
N	-	37	45	-	-	-	-	-
N	-	38	46	-	-	-	-	-
N	-	41	50	-	-	-	-	-
N	-	38	45	-	-	-	-	-
N	-	39	47	-	-	-	-	-
D	11,9	45	55	1	0	1	0	0
D	17,6	40	48	0	1	1	1	0
D		57	74	1	1	1	1	0
D	12	36	44	1	0	1	0	0
D	12	32	42	1	0	1	1	0
D	25,3	30	42	1	0	1	1	1
D	5,8	32	44	1	1	0	1	0
LD	12,6	53	61	1	0	1	0	0

LD	17	51	62	0	1	1	1	0
LD	9,8	51	63	1	1	1	1	0
LD	8,7	46	59	1	0	1	1	0
LD	15,2	32	45	1	0	0	1	0
LD	15,6	36	44	1	0	1	1	0
LD	24	27	35	1	0	1	1	0
LD	23,2	29	41	1	1	1	1	0
LD	7,4	34	42	1	0	1	1	0
L	20,5	32	45	1	1	1	1	0
L	22,7	40	50	1	1	1	1	0
L		30	43	1	1	0	1	0
L	15,2	38	50	1	0	1	1	0
L		28	37	1	1	1	1	0
L	18,6	31	42	1	1	1	1	0
L	27,9	45	60	1	0	1	1	0
L	15,4	26	43	1	0	1	0	0
L	14,8	44	54	1	0	1	1	0

TCC
UFSC
CC
0257

Ex.1

N.Cham. TCC UFSC CC 0257

Autor: Ortellado, Daniel

Título: Estudo histológico da mucosa int



972809111

Ac. 253079

Ex.1 UFSC BSCCSM