

RODRIGO ALEXANDRE EGGER

**ESTUDO DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NA
ISQUEMIA INTESTINAL EM RATOS.**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal De Santa Catarina, para a
conclusão do curso de Graduação em
Medicina.**

FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA

2000

RODRIGO ALEXANDRE EGGER

**ESTUDO DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NA
ISQUEMIA INTESTINAL EM RATOS.**

**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. Maurício José Lopes Pereima

FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA

2000

Egger R. A. *Estudo da translocação bacteriana na isquemia intestinal em ratos*. Florianópolis, 2000.

28 p.

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

1. ISQUEMIA 2. TRANSLOCAÇÃO 3. RATOS

"Não se orgulhe de ter vencido uma batalha,
pois a única vitória que perdura,
é sobre a própria ignorância..."

JIGORO KANO (1860)

DEDICATÓRIA

A meus pais Cirley Acácio Egger e Anita Madalena Rigodanzo Egger pelo exemplo de dignidade humana e constante incentivo...

Aos meus irmãos, pela amizade e companheirismo...

...dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Maurício José Lopes Pereira, pela importante ajuda, paciência e compreensão, sem as quais esse trabalho não seria realizado. E principalmente pela amizade e pelos ensinamentos transmitidos nos 5 anos de convívio.

Ao Dr. Armando José d'Acampora, pelas idéias sugeridas para engrandecer essa obra.

A Farmaceuta e bioquímica Clea Selva de Cordova, pela ajuda na realização das culturas das amostras e por estar sempre disposta.

A minha namorada, Néria Lanziane Janeiro por estar junto e me apoiar por esta longa jornada.

A minha amiga Cristina Bona por ter realizado toda a parte de impressão e organização do meu trabalho, muito obrigado.

Aos meus amigos Tiago Emerin Almeida, Evilásio Carsten Duarte, Giovane Figueredo Locks e Rafael Lisboa de Souza pela ajuda e momentos de alegria.

Aos funcionários do Laboratório de Técnica Operatório da UFSC, pelo apoio e cuidados com os animais utilizados no trabalho .

A todos, que de uma maneira ou outra, em pequenos detalhes, me auxiliaram na composição deste trabalho...

... minha eterna e sincera gratidão.

ÍNDICE

1. Introdução	1
2. Objetivo	3
3. Método	4
3.1. Amostra	4
3.2. Procedimentos	5
4. Resultados	11
5. Discussão	14
6. Conclusão	18
7. Referências	19
Normas Adotadas	21
Resumo	22
Summary	23
Apêndice	24
Anexos	27

1. INTRODUÇÃO

A translocação bacteriana(TB) é um processo caracterizado pela passagem de bactérias e toxinas do espaço intra luminal do intestino para circulação linfática e sistêmica.^{1,2,3,4} Ela é uma das principais hipóteses relacionadas com a resposta inflamatória e o desenvolvimento da sepse.

Um dos fatores que impedem a TB é a integridade do intestino. Em condições normais, a barreira mucosa intestinal, é formada pela barreira celular da borda em escova de células absortivas prismáticas sobre a membrana basal, a camada de muco, composta basicamente por mucina, o tecido linfóide associado ao intestino, a peristalse intestinal normal, que promove o esvaziamento constante do conteúdo bacteriano intra luminal, o pH gástrico e a microflora flora bacteriana normal, é eficiente para manter bactérias e toxinas restritas a luz intestinal enquanto o intestino desempenha outras funções, como o absorção de nutrientes e a secreção de hormônios e enzimas digestivas.

Para que ocorra a ruptura da barreira mucosa intestinal e a passagem de bactérias e toxinas da luz do intestino para a circulação linfática e sistêmica, são necessários basicamente três fatores:⁵

a) Alteração da microflora intestinal, formada pela presença de bactérias anaeróbias estritas gram negativas, aderidas as células da luz intestinal, que limitam a aderência de bactérias gram negativas potencialmente patogênicas.

b) Mecanismos de defesa do hospedeiro ineficientes com imunodeficiência transitória determinado pelo trauma, endotoxemia, queimaduras, etc...

c) Fatores que danifiquem a barreira mucosa, como destruição física e os estados de hipoperfusão de qualquer natureza.

Dentre estes fatores, a isquemia intestinal parece ser um dos principais mecanismos envolvidos na perda da barreira mucosa intestinal. Ela pode ser causada por obstruções agudas da artéria mesentérica superior ou pelos estados de hipoperfusão, como aqueles observados no choque de qualquer etiologia.

Dessa forma durante o processo isquêmico, ocorre um amplo espectro de lesões, desde mudanças na permeabilidade até necrose transmural. A estase do segmento isquêmico, o aumento das secreções intra lumenares e a necrose das vilosidades intestinais forneceriam os substratos para o crescimento bacteriano exagerado.^{6,7,8,9}

Além disso, a flora bacteriana se distribui em concentrações diferentes e de forma heterogênea no trato gastrointestinal. No intestino delgado apresenta-se numa concentração fisiológica em torno de 10^3 a 10^4 unidades formadoras de colônias por grama de tecido (UFC/gr). As principais bactérias encontradas no intestino delgado são: *Lactobacilos*, *Streptococcus* do grupo "viridans", *Escherichia coli*, *Proteus sp*, *Enterococcus sp*, *Klebsiella sp*, *Clostridium sp*, *Bacteroides fragilis*.¹⁰ O aumento da população bacteriana parece ser outro fator importante na incidência de TB, pois estudos sugerem que raramente ocorre translocação em ratos com contagem bacteriana, no ceco, inferior a 10^8 UFC/gr.³

Considerando que o intestino delgado apresenta uma maior susceptibilidade à translocação bacteriana em relação ao colo, devido as diferenças estruturais e fisiológicas entre os intestinos delgado e grosso, e ainda, que ele é um órgão frequentemente afetado nos estados de hipoperfusão ou na evolução de doenças inflamatórias abdominais, procurou-se identificar a TB associado a isquemia intestinal, no intestino delgado.

2. OBJETIVO

Observar a translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos, fígado, baço e circulação sistêmica em um modelo experimental de isquemia intestinal.

3. MÉTODO

3.1. Amostra

Foram utilizados 30 ratos albinos machos, da linha Wistar (*Rattus norvegicus*, *Rodentia*, *mammalia*), com idade de 180 dias e peso variando de 250 a 300 gramas, provenientes do biotério central da UFSC. Os animais foram ambientados no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC- Hospital Universitário 7 dias antes do experimento, recebendo água e ração padronizada (Nuvilab CR1) livremente.

Os animais foram distribuídos em 3 grupos, nos quais foi realizada a ligadura da artéria mesentérica superior (AMS) na sua emergência junto ao ângulo de Treitz com fio mononylon 7-0:

1. **Grupo isquemia 4 horas (n = 10):** animais que foram submetidos a ligadura AMS. Após 4 horas, foram reoperados e coletado 1 ml de sangue, e amostras de linfonodos mesentéricos, próximos a ligadura da AMS, baço e fígado.
2. **Grupo isquemia 8 horas (n = 10):** animais que foram submetidos a ligadura AMS. Após 8 horas, foram reoperados e coletado 1 ml de sangue, e amostras de linfonodos mesentéricos, próximos a ligadura da AMS, baço e fígado.
3. **Grupo isquemia 16 horas (n = 10):** animais que foram submetidos a ligadura AMS. Após 16 horas, foram reoperados e coletado 1 ml de

sangue, e amostras de linfonodos mesentéricos, próximos a ligadura da AMS, baço e fígado.

3.2. Procedimentos

Anestésico

Foi realizado indução anestésica inalatória com éter etílico e manutenção até injeção do anestésico por via intramuscular. Após indução, foi administrado atropina 0,001 mg/Kg subcutânea e 5 minutos após, cloridrato de quetamina + 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina na proporção 5:1, 0,1 ml/100gramas de peso corporal por via intramuscular na face interna da pata traseira do animal. O animal foi considerado anestesiado quando da perda do reflexo córneo-palpebral e ausência de qualquer reação motora, pela prensão do coxim adiposo da pata dianteira. A manutenção do plano anestésico foi feita com 50% da dose inicial quando necessário.

Operatório

Após tricotomia abdominal e antissepsia da pele com iodo povidona, foi realizado a colocação dos campos, laparotomia mediana xifo-púbica, sob técnica asséptica, e inspeção da cavidade. (figuras 1 e 2)



Figura 1: Laparotomia xifo-púbica.



Figura 2: Inspeção da cavidade.

Em seguida foi ligada a artéria mesentérica superior na sua emergência aórtica junto ao ângulo de Treitz com fio mononylon 7-0, sob microscopia óptica com aumento de 6 vezes (figura 3).

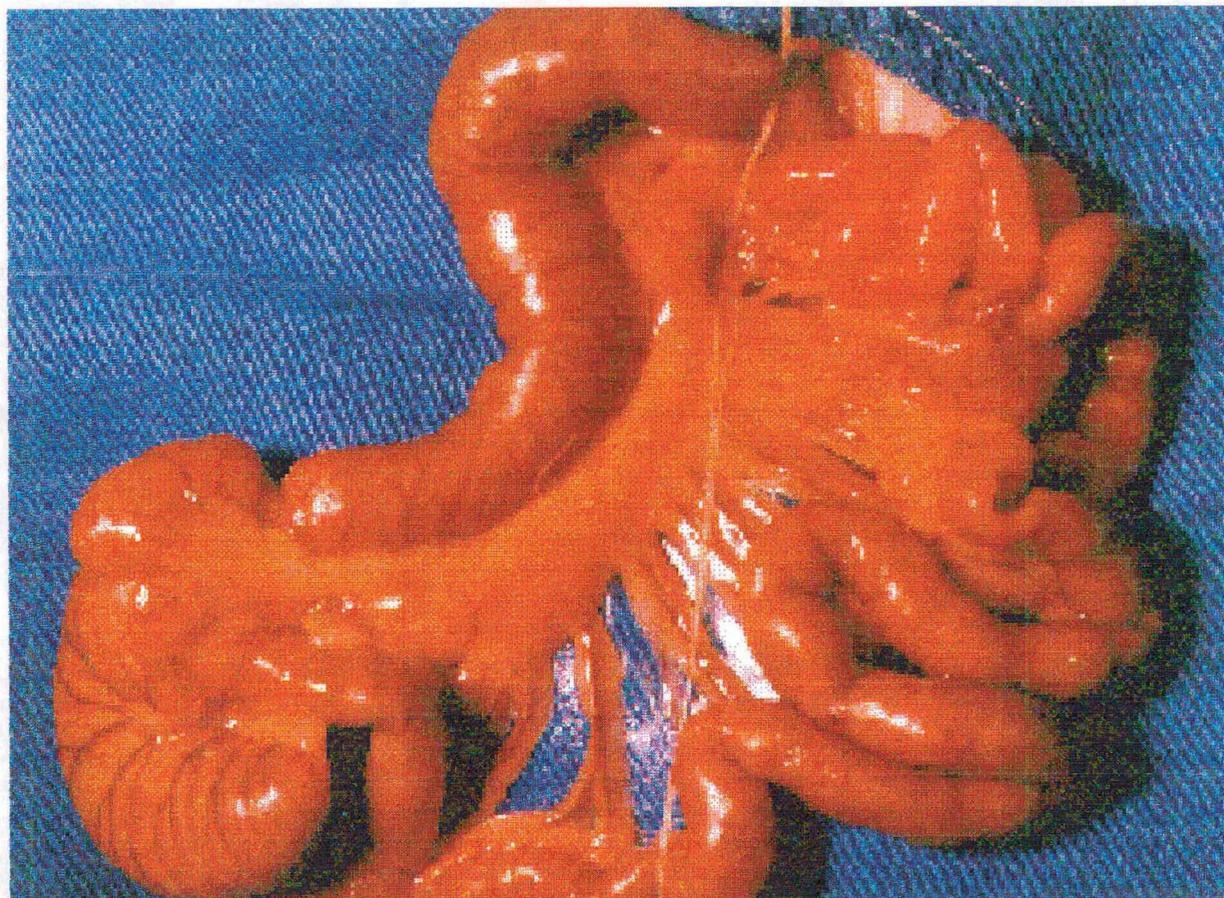


Figura 3: Ligadura da artéria mesentérica superior.

Após a ligadura da Artéria Mesentérica Superior as alças intestinais foram reposicionadas na cavidade abdominal e realizado a síntese da parede em um único plano com fio mononaylon 4-0.

Os animais foram transportados para caixas limpas para recuperação pós anestésico e aguardar o tempo previamente determinado a cada grupo.

Após o término deste tempo, os animais foram novamente anestesiados, submetidos a nova laparotomia sob técnica asséptica, visualizando as estruturas e

coletando amostras de sangue da veia porta, linfonodos mesentéricos, baço e fígado. Estes materiais foram depositados em recipientes estéreis e transportados imediatamente ao Laboratório de Análise do Hospital Universitário para realizar a cultura das amostras.

Culturas

O sangue dos animais coletado foi semeado em meio de tio-glicolato. As amostras que se mostrassem positivas foram semeadas nas placas de Mac Conkey, agar sangue de carneiro a 5% e manitol.

Os LNM, baço e fígado foram macerados e semeados em placas de agar sangue carneiro a 5%, Mac Conkey e manitol. Em seguida levados para estufa com temperatura 35-37° C durante 24-48 horas para ser feito a leitura. As amostras que se mostrassem positivas nas placas de Mac Conkey, foram repicadas numa série bioquímica de quatro meios para identificação da espécie bacteriana gram (-):²³

- a) IAL modificado (Instituto Adolfo Lutz) – meio para identificação de Gram (-).
- b) Citrato de Simmons.
- c) Uréia para as bactérias produtoras desta.
- d) Meio SIM, que verifica motilidade, reação do endol e produção de H₂S.

As amostras que se mostrassem positivas em agar sangue de carneiro a 5% foram diferenciadas através da morfologia das colônias durante a leitura (anexo 1) em Gram (+), *streptococcus sp* e *estafilococcus sp*, ou Gram (-). Quando *streptococcus sp* repicava-se em meios de látex, bili esculina e NaCl a 6,5%. Uma vez identificado a espécie *estafilococcus sp*, ela era repicada em meio de

manitol mais coagulase. Aquelas espécies que fossem Gram (-) era realizada uma nova série bioquímica de quatro meios.¹¹ (figura 4)

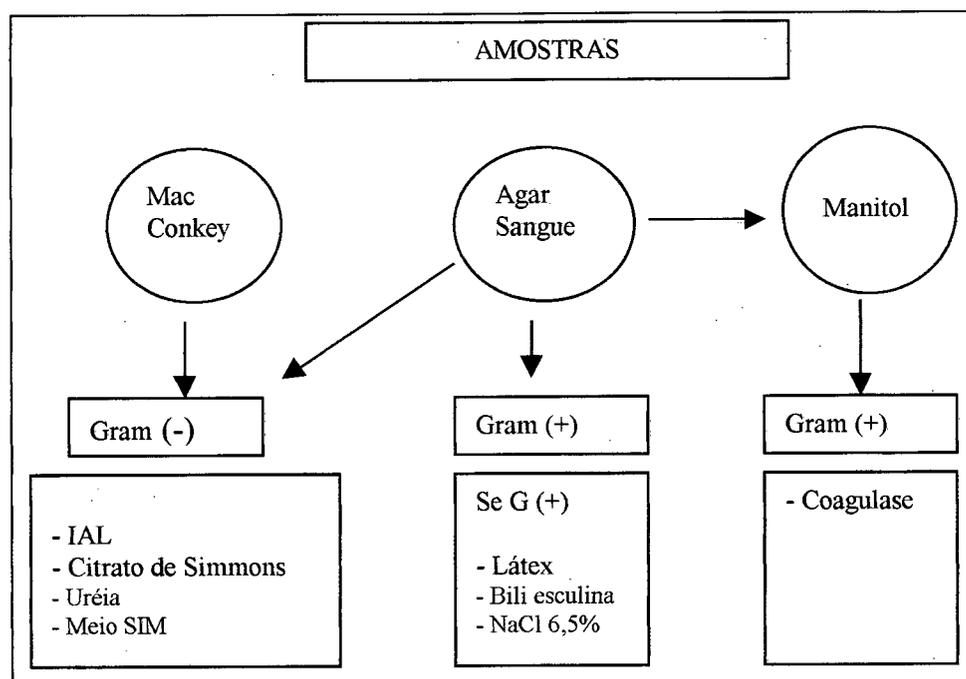


Figura 4: Esquema utilizado na identificação das espécies bacterianas nas amostras, conforme as espécies bacterianas e o meio de cultura utilizado.

4. RESULTADOS

As tabelas I, II e III apresentam os grupos de estudos, com respectivas culturas das amostras coletadas. No grupo 4 horas de isquemia, a maioria dos animais não obtiveram positividade das amostras quanto a translocação bacteriana.

Tabela I – Positividade das culturas nas amostras de sangue, LNM, baço e fígado nos ratos submetidos à isquemia intestinal no tempo 4 horas:

ANIMAIS	SANGUE	FÍGADO	BAÇO	LNM
1	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)
5	(-)	(-)	(-)	(-)
6	(-)	(-)	(-)	(-)
7	(-)	(-)	(-)	(-)
8	(-)	(-)	(-)	(-)
9	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
10	(-)	(-)	(-)	(-)

(-)cultura negativa

Tabela II – Positividade das culturas nas amostras de sangue, LNM, baço e fígado nos ratos submetidos à isquemia intestinal no tempo 8 horas:

ANIMAIS	SANGUE	FÍGADO	BAÇO	LNM
1	(-)	<i>E. viridan</i>	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	<i>E. viridan</i>	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)
5	(-)	<i>E. viridan</i>	(-)	(-)
6	(-)	(-)	(-)	(-)
7	(-)	<i>E. viridan</i>	(-)	(-)
8	(-)	(-)	(-)	(-)
9	(-)	<i>E. viridan</i>	(-)	(-)
10	(-)	(-)	(-)	(-)

(-) cultura negativa

Tabela III – Positividade das culturas nas amostras de sangue, LNM, baço e fígado nos ratos submetidos à isquemia intestinal no tempo 16 horas:

ANIMAIS	SANGUE	FÍGADO	BAÇO	LNM
1	(-)	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
4	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>
5	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>
6	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>
7	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
8	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	(-)
9	(-)	(-)	(-)	(-)
10	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>

(-) cultura negativa

5. DISCUSSÃO

O intestino é o maior reservatório bacteriano do organismo, possuindo na sua luz intestinal uma concentração bacteriana suficiente para causar a morte de seu hospedeiro por diversas vezes.¹² Para manter essa população bacteriana confinada ao lúmen, o intestino possui mecanismos imunológicos e não imunológicos complexos, ao mesmo tempo que desenvolve funções absorptivas e secretoras. A este mecanismo denomina-se, genericamente, barreira intestinal.¹³

Tem sido amplamente demonstrado que, freqüentemente, as bactérias da flora intestinal atravessam a barreira mucosa alcançando tecidos ou órgãos. No indivíduo normal, as bactérias translocadas são rapidamente destruídas pelos fagócitos situados na mucosa ou nos linfonodos mesentéricos. Nestes indivíduos, a translocação bacteriana pode ser considerada um fenômeno benéfico para a saúde, pois representa um estímulo constante à manutenção das defesas imunológicas.^{14, 15}

A alteração desta barreira pode promover passagem anormal de bactérias viáveis da luz intestinal para circulação sistêmica e assim tornar-se fator importante no desenvolvimento da infecção, sepse e falência de múltiplos órgãos e sistemas.^{3, 16}

Segundo Brown, et al., que estudaram as mudanças estruturais das células da mucosa intestinal de cães com a ligadura da artéria mesentérica superior em microscopia eletrônica e óptica, após 5 minutos do clampeamento da artéria, a primeira organela a sofrer alterações foi a mitocôndria e com 30 minutos todas as organelas apresentavam lesões, observados à microscopia eletrônica. Na microscopia óptica se observou após 30 minutos de isquemia, a formação de

espaço de Gruenhagen na camada subepitelial ao nível das vilosidades intestinais, formado pelo acúmulo de líquido entre a camada epitelial e a membrana basal.^{17,18} Segundo Souza,¹⁹ em um estudo prévio desta mesma linha de pesquisa, as primeiras alterações na barreira mucosa intestinal causada pela ligadura da artéria mesentérica superior e do choque hipovolêmico controlado foram observadas com 60 minutos de isquemia, à microscopia óptica. No tempo de 4 horas foram encontradas lesões na mucosa intestinal de grau moderado a intenso, segundo padronização modificada de Chui, et al.¹⁷ (anexo 2). Ambos estes autores demonstraram que a isquemia intestinal é um dos mecanismos que promovem o aumento da permeabilidade da mucosa (espaços de Gruenhagen) e a perda da integridade física da borda em escova, porém não estudaram a população bacteriana local com a TB.

No presente estudo, utilizando um modelo de isquemia intestinal que promoveu a perda da barreira mucosa, procuramos identificar a presença de bactérias no sangue periférico, nos LNM, no fígado e no baço durante a isquemia. Dessa forma, observamos que a TB ocorreu de forma progressiva e crescente, ao tempo de isquemia. No grupo de 4 horas, apenas um animal apresentou TB para LNM, baço e fígado. No grupo de 8 horas, onde a duração e a intensidade da isquemia intestinal foram maiores obtivemos cinco animais com TB e no grupo de 16 horas, quando a duração e a intensidade da isquemia foi máximo, observamos 7 animais com TB. Estes resultados sugerem que a perda da barreira mucosa é um fator importante na TB, permitindo que bactérias e toxinas atravessassem a barreira mucosa causando infecções sistêmicas.

Em relação as espécies bacterianas, elas são encontradas em várias partes do corpo: vias aéreas, cavidade oral, intestino, aparelho genitourinário e pele. Algumas bactérias são encontradas em todos os indivíduos, outras não. As

últimas constituem a flora normal, flora indígena ou microbiota. As coleções de bactérias indígenas de cada região constitui a flora normal da região.¹⁴

A microflora existente no duodeno e jejuno é representada, principalmente, por *lactobacilos* e *estreptococos* provenientes da cavidade oral, que sobrevivem a acidez gástrica. Culturas entéricas de indivíduos normais mostram sempre em torno de 10^3 a 10^4 UFC/gr de *estreptococos* e *lactobacilos* e, mais raramente, de outras bactérias como *estafilococos* e *E. coli*. O íleo é a zona de transição entre a região escassa de microorganismo que é o jejuno e a flora tremendamente densa do intestino grosso. Os microorganismos que habitam o íleo são mais diversificados e estão presentes numa quantidade de 10^8 UFC/gr. A flora intestinal propriamente dita, intestino grosso, é inteiramente diferente das duas floras mencionadas. Habitam no intestino grosso mais de 500 espécies bacterianas distintas predominantemente anaeróbias (99%), o que equivale a dizer que a *E. coli*, uma espécie encontrada em praticamente todos os indivíduos normais, não representa mais que 0,1% da flora fecal.¹⁴

Alem da espécie bacteriana, outro fator importante para que ocorra a TB é a concentração bacteriana segundo Koh, et al., a concentração bacteriana é um fator importante para que ocorra TB para LNM e sistema portal.²⁰ Murray, et al., referem também que durante o processo de isquemia intestinal, a microflora residente prolifera rapidamente. A estase do segmento isquêmico, aumento das secreções intra lumbares e necrose das vilosidades intestinais forneceria os substratos para o crescimento bacteriano acelerado.^{6,7,8}

No presente estudo, não foi realizado a contagem do número de bactérias em cada tempo do experimento e em cada amostra. Entretanto a identificação de um maior número de espécies bacterianas nos tempos de 8 e 16 horas sugerem que o crescimento bacteriano pode ser outro fator associado à isquemia para promover a TB.

Finalmente, em relação aos mecanismos da TB, a literatura pesquisada, refere que a bactéria da luz intestinal pode disseminar-se pelo hospedeiro através de duas vias: 1) a via linfática – luz intestinal, placas de Peyer, linfonodo do mesentério (LNM), ducto torácico e circulação sistêmica²¹ e 2) a via portal – luz intestinal, veia porta e circulação sistêmica, esta última possível somente em condições extremas de infecção sistêmica e de trauma.^{22,23}

Quando identificamos a presença de bactérias nas amostras do presente estudo observamos que as culturas foram positivas no tempo 16 horas em maior número nos LNM e em menor número no baço e no fígado. Não foi encontrada cultura positiva no sangue periférico. Estes achados parecem demonstrar que a via de maior importância para disseminação das bactérias e suas toxinas no presente pesquisa foi a via linfática, corroborando com os trabalhos dos autores pesquisados.

A análise global dos resultados obtidos podemos sugerir que a concentração bacteriana e o tempo de isquemia são fatores importantes para que ocorra a TB. Entretanto novas pesquisas devem ser realizadas uma vez que não foi possível a realização do trabalho estatístico na presente amostra, e também determinar a concentração bacteriana em cada amostra pesquisada.

6. CONCLUSÕES

Os grupos de 8 e 16 horas apresentaram uma maior positividade das culturas dos LNM, do fígado e baço.

Não foi encontrada positividade nas amostras de sangue periférico.

A via de disseminação mais provável é a linfática, uma vez que somente obtivemos positividade das culturas nos órgãos que fazem parte deste sistema, como os LNM, o fígado e o baço.

7. REFERÊNCIAS

1. Brenner S, Campos GMR, Brenner AS, et al. - Oclusão intestinal. Análise de 276 casos. Rev Col Bras Cir 1994;11:1-5.
2. Baker JW, Deitch EA, Berg RD, et al. - Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. J Trauma 1988;28:896-906.
3. Deitch EA, Bridges WM, Ma JW, et al. - Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. Am J Surg 1990;159:400-1.
4. Matias JEF. - Modelo experimental de nutrição parenteral em ratos, 1991. Dissertação de Mestrado em Clínica Cirúrgica, Universidade Federal do Paraná.
5. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, et al. - The process of microbial translocation. Ann Surg 1990;212:496-512.
6. Schneider TA, Longo WE, Urf T. Mesenteric ischemia- Acute arterial syndromes. Dis Colon Rectum, 37:1163-74,1994.
7. Murray MJ, Barbose JJ, Cobb CF. - Serum D(-)Lactate as a predictor of Acute intestinal Ischemia in a Rat model. J.Surg. Res., 54:507-99 1993.
8. Murray MJ, Gonze MD, Nowak LR, Cobb CF. - Serum D(-)Lactate levels as and Aid to Diagnosing Acute Intestinal Ischemia, Am.J.Surg., 167:575-7,1994.
9. Diniz EMA, Krebs VLJ, Maksoud JG. - Enterocolite necrotizante neonatal. In : Pediatria Básica.8.ed, Sarvier: São Paulo - SP, 7:485 -90,1992.
10. Zeni CN, Campos ACL, Coelho JCU, Malafaia O, et al - Translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal: Efeitos da isquemia e do local da oclusão - Rev Col Bras Cir 1997;vol. XXIV - nº 2 - 111-116.
11. Isenberg DH. Essential Procedures for Clinical Microbiology. 1998 Editor in cheif.

12. Chuang JH, Shieh CS, Chang NK, et al - Role of parenteral nutrition in preventing malnutrition and decreasing of bacterial translocation to liver in obstructive jaundice - *World J Surg* 1993;17:580-86.
13. Saadia R, Schein M, McFarlane C, et al. - Gut barrier function and the surgeon. *Br J Surg* 1990;77:487-92.
14. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in Microbiology*, 1996;4:413-461.
15. Wells CL, Lechorek RP, Erlandsen SL. - Evidence for the translocation of enterococcus faecalis across the mouse intestinal tract. *J Infect Dis* 1990;162:82-90.
16. Deiteb EA, Berg RD, Specian, R. - Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg* 1987; 122:185-90.
17. Chiu C, Macardle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. *Arch Surg* 1970;101:478-83.
18. Brown RA, Chiu C, Scott HJ, Gurd FN. Ultrastructure changes in the canine ileal mucosal cell after mesenteric arterial occlusion. *Arch Surg* 1970;101:290-7.
19. Souza RL. Estudo histológico da ruptura da barreira mucosa na isquemia intestinal em ratos, trabalho apresentado na UFSC de conclusão de curso de graduação em medicina 1999/2.
20. Koh IHJ, Montero EFS, Neto AB, Goldenberg S, Silina RM. Translocação bacteriana pela via linfática. Estudo experimental em ratos. Fórum de Pesquisa no XXI Congresso Brasileiro de Cirurgia.
21. Berg DR, & Carlington 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.*, 23:403-11, 1979.
22. Moore FA, Moore EE, Pogetti R, McAnena OJ. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma, *J. Trauma*, 31:629-35, 1991.
23. Collin EM, Ross SE, Nagele R, Mure AJ, O'Malley KF, Garcia-Perez FA. Bacterial translocation occurs in humans after traumatic injury: evidence using immunofluorescence. *J. Trauma*, 34:586-19, 1993.

NORMAS ADOTADAS

As normas adotadas foram da Resolução Nº 001/99 do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina.

RESUMO

A translocação bacteriana (TB) é um processo caracterizado pela passagem de bactérias e toxinas do espaço intra luminal do intestino para circulação linfática e sistêmica.¹²³⁴ Foi analisado a TB para os linfonodos mesentéricos (LNM), o baço, o fígado e circulação sistêmica em um modelo experimental de isquemia intestinal.

Foram utilizados 30 ratos albinos machos, da linha Wistar, divididos em três grupos: O grupo isquemia 4 horas, (n=10), submetidos a ligadura da artéria mesentérica superior (AMS), durante 4 horas, o grupo 8 horas, (n=10), submetido a 8 horas de ligadura e o grupo de 16 horas, (n=10), submetidos a 16 horas de ligadura. Após o término do tempo de cada grupo foram coletados amostras de sangue periférico (1 ml), LNM, baço e fígado. As amostras foram transportadas ao Laboratório de Análise do Hospital Universitário para a realização das culturas.

Os resultados obtidos foram: No grupo 4 horas, apenas um animal, apresentou culturas positivas nos LNM, no baço e fígado, nos grupos 8 e 16 horas apresentaram respectivamente 5 e 7 animais com positividade das amostras. Estes resultados sugerem que o tempo de isquemia intestinal é um fator importante para a TB, uma vez que, não foi encontrado positividade no sangue periférico. A via de disseminação mais provável é a linfática, pois somente obtivemos positividade das culturas nos órgãos que fazem parte deste sistema.

SUMMARY

The bacterial translocation (BT) is characterized by the passage of bacteria and toxins from the endoluminal space of the intestine to the lymphatic and systemic circulation.^{1,2,3,4} TB was analyzed for mesenteric lymphonodes (MLN), spleen, liver and systemic circulation. Thirty Wistar male albino rats were used, divided into three groups of ten animals: the four, the eight, and the sixteen-hour-group. They were submitted to a junction of their superior mesenteric artery (SMA) for the period of time that named their groups, and 1mL of peripheral blood, as well as spleen and liver samples were collected after each group was ready. The cultures of the samples were made at Analysis Lab of the University Hospital.

On the four-hour-group, just one animal presented positive cultures at the MLN, spleen and at the liver; the eight and the sixteen-hour ones had respectively 5 and 7 rats with positive samples. These results suggest that the time of intestinal ischemia is important to the BT since no positive characteristics were found at the peripheral blood. The dissemination is more likely lymphatic considering that positive characteristics were obtained only at the cultures of the organs that are part of this system.

APÊNDICE

Protocolo das amostras:

Data:

Tempo de isquemia: rato nº:

Coleta de sangue:

Resultado da hemocultura

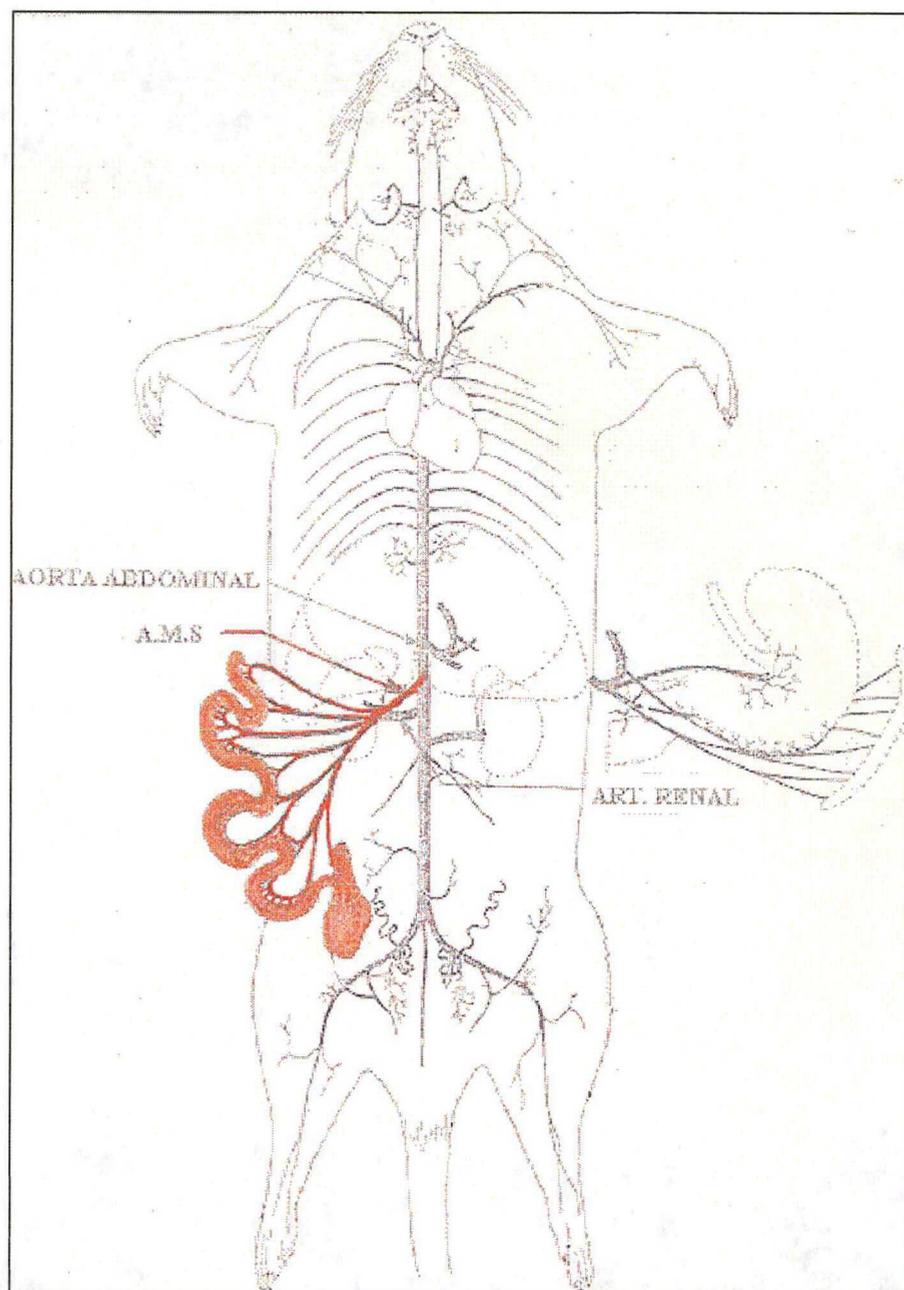
Horário da primeira coleta: () -----

Horário da segunda coleta: () -----

Cultura dos tecidos:

	aguar sangue	mconkey	Monitol
LNМ	() -----	() -----	() -----
BAÇO	() -----	() -----	() -----
FÍGADO	() -----	() -----	() -----

Ilustração do local de ligadura da artéria mesentérica superior (AMS)



CULTURA DOS TECIDOS

TEMPO DE ISQUEMIA	ANIMAL	SANGUE		FÍGADO			BAÇO			LNM			
		1ª coleta	2ª coleta	AS	MC	manitol	AS	MC	manitol	AS	MC	manitol	
4 HORAS	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	9	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
8 HORAS	1	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. Viridans</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	3	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. Viridans</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. Viridans</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	7	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. Viridans</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	9	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. Viridans</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
16 HORAS	1	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Klebsiella</i>	(-)	(-)	<i>Klebsiella</i>	(-)	(-)	<i>Klebsiella</i>	
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	3	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	
	7	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	10	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	(-)	(-)	<i>E. coli</i>	

ANEXOS

Anexo 1

Diferenciação de Enterobacteriaceae por testes Bioquímicos

	Indol	VM	VP	Citrato	H ₂ S	Uréia	Fenil	Lisina	Arginina	Ominina	Motilidade	Gás
<i>Budvicia aquatica</i>	00	92	00	00	80	23	00	00	00	00	27	33
<i>Buitauzella agrestis</i>	00	100	20	100	00	00	00	00	00	100	100	100
<i>Cedecea davisae</i>	00	100	50	85	00	00	00	00	50	85	85	70
<i>Citrobacter freundii</i>	03	100	00	78	78	44	00	00	87	00	85	80
<i>Citrobacter koseri</i>	00	100	00	98	00	75	00	00	80	89	85	88
<i>Citrobacter amelonaticus</i>	100	100	00	95	06	86	0	00	86	86	86	87
<i>Edwardsiella tarda</i>	88	100	00	04	100	00	00	100	00	100	98	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	00	05	80	85	00	02	00	98	00	08	37	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	00	08	100	100	00	05	00	00	87	89	85	100
<i>Enterobacter gergoviae</i>	00	05	100	88	00	83	00	90	00	100	90	98
<i>Enterobacter sakazakii</i>	11	06	100	80	00	01	50	00	88	91	88	88
<i>Escherichia coli</i>	88	89	00	01	04	01	00	90	17	05	85	86
<i>Ewingella americana</i>	00	84	00	80	00	00	00	00	00	00	60	00
<i>Hafnia alvei</i>	00	40	85	10	00	04	00	100	06	88	85	88
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00	10	98	86	00	26	00	98	00	00	00	97
<i>Klebsiella oxytoca</i>	88	20	85	86	00	00	01	80	00	00	00	97
<i>Klebsiella ozaenae</i>	00	98	00	00	00	10	00	40	08	03	00	80
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	00	100	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<i>Kluyvera ascorbata</i>	92	100	00	88	00	00	00	97	00	100	98	83
<i>Lactocera sp</i>	100	100	00	00	00	48	00	00	00	00	78	87
<i>Laminocella sp</i>	00	100	00	100	100	00	00	00	00	00	00	20
<i>Morganella morganii</i>	85	85	00	00	20	88	85	01	00	06	96	80
<i>Obesumbacterium sp</i>	00	16	00	00	00	00	00	100	00	100	00	00
<i>Pantoea agglomerans</i>	20	80	70	80	00	20	00	00	00	00	88	20
<i>Proteus mirabilis</i>	00	87	80	85	88	98	98	00	00	00	80	80
<i>Proteus vulgaris</i>	98	85	00	16	85	85	88	00	00	00	85	88
<i>Proteus penneri</i>	00	100	00	00	30	100	88	00	00	00	85	48
<i>Providencia rettgeri</i>	80	80	00	85	00	08	08	00	00	00	84	10
<i>Providencia stuarti</i>	88	100	00	80	00	30	98	00	00	00	88	00
<i>Providencia alcalifaciens</i>	88	89	00	88	00	00	88	00	00	01	86	85
<i>Salmonella typhi</i>	00	100	00	00	91	00	00	88	03	00	87	00
<i>Salmonella choleraesuis</i>	00	100	00	25	80	00	00	80	85	100	85	85
<i>Salmonella paratyphi A</i>	00	100	00	00	10	00	00	0	15	86	86	80
<i>Salmonella gallinarum</i>	00	100	00	00	100	00	00	80	10	01	00	00
<i>Salmonella pullorum</i>	00	80	00	00	80	00	00	100	10	96	00	80
<i>Serratia marcescens</i>	01	20	88	08	00	16	00	89	00	89	97	85
<i>Serratia liquefaciens</i>	01	80	80	90	00	08	00	86	00	86	86	75
<i>Serratia rubicida</i>	00	20	100	86	00	00	00	85	00	00	88	30
<i>Serratia odorifera</i>	80	100	80	100	00	06	00	100	0	100	100	00
<i>Shigella O (Grupos ABC)</i>	80	100	00	00	00	00	00	00	06	01	00	02
<i>Shigella sonnei</i>	00	100	00	00	00	00	00	00	02	88	00	00
<i>Tatumella sp</i>	00	00	05	00	00	00	90	00	00	00	00	00
<i>Yersinia enterocolitica</i>	50	87	02	00	00	75	00	00	00	85	02	08
<i>Yersinia pestis</i>	00	80	00	00	00	06	00	00	00	00	00	00

Anexo 2

Padronização modificada de Chui C, Macardle AH, Brown R, et al.

- a) **Ausentes:** vilosidades bem constituídas, sem lise celular ou espaçamento entre as vilosidades.
- b) **Leve:** presença de lises celulares, com formação de espaço subepitelial de GRUENHAGEN e espaçamento aumentado entre as vilosidades.
- c) **Moderado:** destruição da porção livre das vilosidades, havendo apenas esboço de algumas, formado por material necrótica depositado sobre as glândulas basais.
- d) **Intenso:** destruição de toda a túnica mucosa, não sendo observada qualquer estrutura glandular, apenas material amorfo, depositado sobre a tela submucosa.

TCC
UFSC
CC
0259

N.Cham. TCC UFSC CC 0259

Autor: Egger, Rodrigo Ale

Título: Estudo da translocação bacterian



972809234

Ac. 253081

Ex.1

Ex.1 UFSC BSCCSM