

SANDRO POLIDORO BERNI BRUM

**OBSTRUÇÃO URETERAL E POPULAÇÃO BACTERIANA,
NO TRATO URINÁRIO SUPERIOR DE RATOS WISTAR**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Universidade
Federal de Santa Catarina para a
obtenção do Título de Mestre em
Ciências Médicas**

Florianópolis

2004

SANDRO POLIDORO BERNI BRUM

**OBSTRUÇÃO URETERAL E POPULAÇÃO BACTERIANA,
NO TRATO URINÁRIO SUPERIOR DE RATOS WISTAR**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Universidade
Federal de Santa Catarina para a
obtenção do Título de Mestre em
Ciências Médicas**

**Coordenadora do Curso: Prof^a. Dr^a. Márcia Margarete Menezes
Pizzichini**

Orientador: Prof. Dr. Edevard José Araújo

Co-Orientador: Prof. Dr. Armando José d'Acampora

Florianópolis

2004

Brum, Sandro Polidoro Berni

Obstrução ureteral e população bacteriana, no trato urinário superior de ratos Wistar./ Sandro Polidoro Berni Brum. – Florianópolis, 2004. 45p.

Orientador: Edevard José de Araújo

Co-orientador: Armando José d'Acampora

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Pós –Graduação em Ciências Médicas.

1. Rim 2. Obstrução ureteral 3. Bactérias 4.Rato

DEDICATÓRIA

A **DEUS**, por ter me proporcionado esta existência e todas as situações pelas quais tenho passado, as quais têm transformado os meus valores.

A minha esposa **GRACIELA** por todo seu amor, compreensão, carinho, auxílio nos momentos de dúvida e por estar sempre com o apoio necessário para que não desanimasse diante das dificuldades. Obrigado por me dar a felicidade de viver com você.

Aos meus **PAIS** por terem me proporcionado uma educação moral e intelectual, que tem me permitido superar as etapas da vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **EDEVARD JOSÉ ARAÚJO**, meu orientador, por toda sua colaboração e capacidade de orientação, além do sua imensa boa vontade em auxiliar-me em todos os momentos da realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **ARMANDO JOSÉ D'ACAMPORA**, co-orientador, por ter me proporcionado a oportunidade de conviver ao seu lado nestes últimos anos, e ter apeendido com o seu exemplo a iniciar uma carreira acadêmica pautada na melhor conduta ética e moral. Obrigado por toda a sua orientação durante a realização e na manutenção da qualidade desta pesquisa.

A Dra. **MARA CRISTINA SCHEFFER**, bioquímica do laboratório da UFSC, pela sua dedicação e imensa boa vontade em abdicar de seu tempo para a realização dos estudos microbiológicos, sem os quais este trabalho não seria possível.

Aos colegas Prof. Dr. **JORGE BINZ ELY**, **Dr. DARLAN DE MEDEIROS KESTERING** e **LUIZ HENRIQUE PRAZERES**, por todo o seu auxílio e substituição durante os anos da realização desta pesquisa.

Aos colegas Drs. **KAISER KOCH**, **MÁRCIA REGINA PEREIRA** e **CLODOMIR ANTÔNIO VIEIRA**, pelo convívio fraterno durante as inúmeras viagens realizadas.

Ao Prof. **RENÉ BLAZZIUS**, médico veterinário da UNISUL, por sua disposição em realizar todos os procedimentos anestésicos, qualificando o nosso trabalho, pelo seu conhecimento.

Às funcionárias do Laboratório de Bases da Clínica Cirúrgica e Cirurgia Experimental **KERINCRISTIAN GENOVEZ** e **CÍNTIA SOUZA DA SILVA** por sua contribuição para o sucesso na realização dos procedimentos e por sua disposição em auxiliar independente de suas atividades.

A todos que auxiliaram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
SUMMARY.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVO.....	12
3. MÉTODOS.....	13
4. RESULTADOS.....	24
5. DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS	35
8. NORMAS ADOTADAS.....	38
9. APÊNDICE.....	39

RESUMO

A infecção urinária é uma situação freqüente em Urologia e caracteriza-se pela sua gravidade quando associada a obstrução ureteral. O objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre a obstrução ureteral e a população bacteriana no trato urinário superior de ratos Wistar. Quarenta ratos foram distribuídos em dois grupos iguais: Experimento (E) e Sham (S). Cada um destes grupos foi subdividido em outros dois subgrupos de dez animais, sacrificados no segundo e sétimo dias após o procedimento, denominados: E2, E7, S2 e S7. No início do procedimento foi coletada, por punção, a urina da bexiga, em todos os ratos. Em seguida os animais do experimento foram submetidos à ligadura e secção do ureter esquerdo. Os animais do grupo Sham foram submetidos apenas à laparotomia. Na eutanásia foi realizada a nefrectomia esquerda em todos os animais, encaminhando-se um segmento do rim para o laboratório. A comparação entre os subgrupos E2 e S2 não demonstrou diferença estatística em relação às culturas de urina em oposição à análise das culturas dos segmentos renais onde foi evidenciada diferença significativa. O mesmo aconteceu na comparação dos subgrupos E7 e S7. Os resultados das culturas de segmento renal dos subgrupos E2 e E7 não apresentaram diferença estatística significativa. A obstrução ureteral unilateral determinou o aumento da população de bactérias aeróbicas, na unidade renal acometida, em ratos Wistar.

SUMMARY

Urinary infection is a frequent situation in Urology and is characterized by their severity when associated with an ureteral obstructions. The objective of this study was to assess the relationship between ureteral obstructions and the bacteria population in the superior urinary tract of Wistar rats. Forty rats were distributed into two equal groups: Experiment (E) and Sham (S). Each of these groups were divided into two other subgroups of 10 animals, which were sacrificed on the 2nd and 7th day after the procedure: E2, E7, S2, S7. In beginning of the procedure urine from the bladder was collected by puncture and aspiration in the all rats. Next the animals of the experiment were subjected to a ligature and division of the left ureter. The animals of the Sham group were only subjected to a laparotomy. In the sacrifice a left nephrectomy was performed in all animals, sending a segment of the kidney to the laboratory. The comparison between the E2 and S2 didn't demonstrate a statistical difference in relation to the urine cultures as opposed to the culture analysis of the kidney segments where statistical difference was found. The same thing happened in the comparison of subgroups E7 and S7. The results of the kidney segment cultures of subgroup E2 and E7 didn't show statically differences either. The unilateral ureteral obstruction increases the aerobic bacteria population in the affected unity in Wistar rats.

1 INTRODUÇÃO

Na prática médica moderna o desafio do tratamento das infecções continua sendo uma das situações mais comumente encontradas.

Entre todas as infecções bacterianas que acometem o ser humano, a infecção do trato urinário (ITU) é a mais freqüente. A ITU caracteriza-se por variar em sua apresentação de acordo com o sexo e a idade do paciente, bem como pela presença de fatores complicadores, como a obstrução ureteral.^{1,2,3}

Exceto pela porção distal da uretra, o trato urinário é considerado asséptico¹. A infecção urinária é a invasão do trato urinário por microorganismos que desencadeiam uma resposta inflamatória.^{2, 3} As enterobactérias são os principais agentes etiológicos; embora, raramente, podemos encontrar vírus, fungos ou protozoários como agentes envolvidos.^{4,5}

As principais vias de acesso destes microorganismos ao trato urinário são a via ascendente (retrógrada), a hematogênica e a linfática.^{2,3} A mais freqüente é a via ascendente, através da qual as bactérias intestinais inicialmente colonizam o períneo (principalmente no sexo feminino) pela aderência destes agentes à mucosa e intróito vaginal e, posteriormente, ao urotélio uretral e vesical.^{6,7} Uma vez atingida a mucosa vesical ocorre a ITU, a qual é quase sempre limitada à bexiga, como doença clínica, muito embora exista evidência experimental de que em quase 50% dos casos existam bactérias no sistema coletor renal, inclusive sem causar pielonefrite.⁸

Essas enterobactérias, quando atingem a pelve renal, o fazem passando pelo ureter, como nos casos de refluxo vésico-ureteral ou nas alterações no peristaltismo ureteral (como visto nos casos de obstrução parcial ao fluxo urinário ureteral) as quais aliadas à aderência bacteriana, facilitam a ascensão do microorganismo até o rim.⁹

Uma vez na pelve renal os germes podem ascender aos túbulos através das extremidades das papilas e disseminar-se pelo parênquima renal, produzindo pielonefrite

aguda. Essa ascensão é mais freqüente quando existe refluxo pielo-tubular ou obstrução urinária e conseqüente aumento da pressão na pelve renal.⁹

Raramente os microorganismos podem atingir o parênquima renal através da corrente sanguínea, sendo nestes casos mais comumente envolvidos o *Staphylococcus aureus* e os fungos. Não existe dúvida de que a presença de obstrução favorece esse mecanismo de ITU.¹⁰

A disseminação de infecções extra-urinárias para o sistema coletor ou rins por via linfática é pouco comum e limitada a poucos casos de obstrução intestinal ou abscessos intra ou retroperitoneais, especialmente em pacientes com estado geral comprometido.⁹

As manifestações clínicas das infecções do trato urinário podem variar desde colonização bacteriana assintomática da bexiga, denominada bacteriúria assintomática, até sintomas miccionais irritativos isolados (disúria, polaciúria e urgência miccional) ou em associação com infecção urinária alta, a qual é acompanhada de sinais sistêmicos, como febre.²

Atualmente as ITU têm sido classificadas considerando-se as condições funcionais e anatômicas do trato urinário e do estado de saúde do hospedeiro:

- a) Infecção urinária não complicada – é aquela que ocorre em pacientes com o trato urinário normal sob o ponto de vista funcional e anatômico.¹¹
- b) Infecção urinária complicada – é a que ocorre em pacientes que apresentam fatores que aumentam a probabilidade de adquirir infecção e/ou diminuem a eficácia da terapêutica. A infecção é considerada complicada quando o trato urinário apresenta alteração anatômica, destacando-se as obstruções; alterações funcionais (doenças que reduzem a capacidade de concentração dos rins ou condições neurológicas que prejudicam a capacidade de armazenamento e esvaziamento vesical); a saúde do paciente está comprometida (ex.: diabetes melito); ou a bactéria tem alta virulência (o fator bacteriano mais importante das enterobactérias é o seu poder de aderência).¹¹

Entre as ITU consideradas complicadas, a associação com a obstrução do trato urinário é uma das apresentações mais comuns na prática diária.

A obstrução ureteral unilateral, sem evidência clínica de ITU concomitante, ocorre com grande frequência no dia-a-dia do urologista, e a sua apresentação clínica poderá variar de acordo com o tempo de instalação do processo obstrutivo (agudo ou crônico), com o tipo de obstrução (intrínseca ou extrínseca) e a sua intensidade (parcial ou total). A apresentação clínica da obstrução ureteral pode variar desde a cólica reno-ureteral, nos casos de início súbito, até a ausência de sintomas nos casos de processo obstrutivo que evolui de forma insidiosa.² Queixas como anúria (nos casos de obstrução súbita) ou sintomas de uremia (obstrução crônica) podem predominar quando obstrução ureteral bilateral ou unilateral em rim único funcionante ocorre.²

Existem muitas causas de obstrução ureteral: estreitamentos congênitos, ureterocele, ureter retrocava, carcinomas primários do ureter, doenças inflamatórias como tuberculose e endometriose, além de cálculo, trauma iatrogênico em operações pélvicas, obstruções extrínsecas por tumores (como câncer de colo uterino e próstata), gravidez, etc¹²

Devido a esta variabilidade de apresentação e o grande número de fatores envolvidos, os estudos sobre obstrução do trato urinário em seres humanos são difíceis de serem conduzidos. A maior parte do conhecimento atual sobre as alterações fisiopatológicas que acometem uma unidade reno-ureteral é baseada em estudos de modelos animais os quais se aproximam dos estados de doença vistos clinicamente.^{12,13}

Em relação ao efeito deletério da obstrução isolada, existem vários estudos abordando as alterações macro e microscópicas, bem como quais os principais mediadores inflamatórios, vasoativos e demais fatores envolvidos com o processo obstrutivo.^{13, 14, 15}

A associação entre obstrução e ITU tem sido motivo de vários estudos, principalmente devido à gravidade do quadro, pois coloca o paciente em risco de sepse, além de reduzir as chances de recuperação da unidade renal acometida mesmo após o alívio da obstrução.^{12,16,17,18,19,20,21,22}

Modelos animais têm confirmado a associação entre ITU e elevação da pressão na pelve renal em animais com obstrução ureteral parcial.²³

Na revisão da literatura sobre o tema infecção e obstrução ureteral, foram encontrados vários estudos nos quais a pielonefrite experimental foi reproduzida pela inoculação direta nos rins de cobaias^{16,17,18}; por disseminação hematogênica^{19,20,21,22} ou por inoculação retrograda.¹⁹ Em tais estudos a bactéria foi administrada pela uretra ou

diretamente na bexiga, com taxas variáveis de pielonefrite, dependendo das espécies bacterianas e sua virulência e da inserção de corpo estranho na bexiga.¹⁹ Entretanto, não foram localizados trabalhos relacionando a obstrução ureteral de forma isolada com o comportamento bacteriano. Existe evidência na literatura de que a ligadura e secção do ureter previnem a ITU por via ascendente (conhecidamente a via principal de acesso dos microorganismos ao trato urinário alto).²⁴ Além de ser descrita a possibilidade de colonização bacteriana do urotélio sem causar bacteriúria^{25,26,27} tornando a instalação do processo infeccioso um embate entre os fatores de virulência dos microorganismos e os mecanismos de defesa do hospedeiro.

O fato de não ter sido encontrado, na revisão da literatura, a relação entre aumento da população bacteriana e a ligadura isolada do ureter, motivou a realização de um modelo experimental com este objetivo.

2 OBJETIVO

Estudar a relação entre a obstrução ureteral unilateral experimental e a população bacteriana aeróbica, no trato urinário superior de ratos Wistar.

3 MÉTODOS

3.1 AMOSTRA

Foram utilizados 40 ratos albinos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus –Rodentia mamalia*) da mesma idade (180 dias), com peso entre 250 e 300 gramas, mantidos em gaiolas individuais de polietileno, até o tempo determinado, para o experimento.

Os animais foram mantidos sob luz natural, com ciclo dia/noite inalterado, em temperatura ambiente, com condições ambientais de ruído, temperatura e umidade consideradas normais e receberam alimentação própria para a espécie (Nuvilab CR1- Nuvital Nutrientes Ltda. Curitiba. Paraná), com acesso livre à dieta e à água.

Os animais foram identificados por numeração e pesados antes da realização do procedimento cirúrgico.

A amostra estava de acordo com o protocolo para uso de animais em pesquisa da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sendo aprovada sob os números 304/CEUA e 23080.017786/2004-99/UFSC (Apêndice 1).

GRUPO DE ANIMAIS

Os 40 animais foram distribuídos, por sorteio simples, em 2 grupos de 20 unidades, como descrito a seguir (Figura 1):

GRUPO EXPERIMENTO – E (20 ratos): Neste grupo, os animais foram submetidos à laparotomia (Dia 0), coleta de urina da bexiga e ligadura do ureter esquerdo seguida de secção do mesmo. Após o procedimento, os animais foram distribuídos em dois outros subgrupos (E2 e E7), conforme a data do sacrifício do animal, a saber:

SUBGRUPO EXPERIMENTO – E2 (10 ratos): sacrificados após 2 dias da realização dos procedimentos, realizando-se nefrectomia unilateral esquerda, sendo que o rim

foi seccionado transversalmente e um segmento do mesmo encaminhado para a realização de coloração de Gram e cultura.

SUBGRUPO EXPERIMENTO – E7 (10 ratos): sacrificados após 7 dias da realização dos procedimentos, realizando-se nefrectomia unilateral esquerda, sendo que o rim foi seccionado transversalmente e um segmento do mesmo encaminhado para a realização de coloração de Gram e cultura.

GRUPO SHAM (20 ratos): Neste grupo, os animais foram submetidos à laparotomia (Dia 0) e coleta de urina da bexiga, sem ligadura do ureter. Após o procedimento, os animais foram distribuídos em dois outros subgrupos (S2 e S7) conforme a data do sacrifício do animal, a saber:

SUBGRUPO SHAM – S2 (10 ratos): sacrificados após 2 dias da realização dos procedimentos, realizando-se nefrectomia unilateral esquerda, sendo que o rim foi seccionado transversalmente e um segmento do mesmo encaminhado para a realização de coloração de Gram e cultura.

SUBGRUPO SHAM – S7 (10 ratos): sacrificados após 7 dias da realização dos procedimentos, realizando-se nefrectomia unilateral esquerda, sendo que o rim foi seccionado transversalmente e um segmento do mesmo encaminhado para a realização de coloração de Gram e cultura.

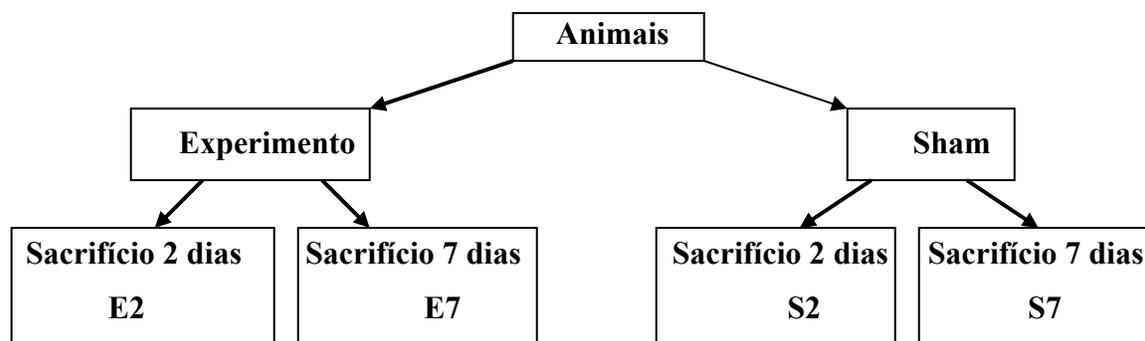


Figura 1 – Diagrama do método

3.2 PROCEDIMENTOS

Procedimento Anestésico:

Todos os animais identificados e pesados, previamente sorteados, foram submetidos à anestesia geral com uma solução de Cloridrato de Cetamina (5 mililitros) e solução aquosa a 2% de Cloridrato de 2(2,6-xilidino) 5,6-dihidro-4-H-1,3-tiazina (1 mililitro). Foram injetados 0,5 mililitros da solução, pela via intramuscular, na face interna da pata traseira direita do animal.

O animal foi considerado anestesiado quando havia perdido o reflexo córneo-palpebral e não exibia qualquer reação motora pela preensão do coxim adiposo de seu membro torácico (Apêndice 3).

Procedimento Cirúrgico

Após atingir o plano anestésico, o animal foi submetido à depilação por arrancamento dos pêlos do abdome e foi posicionado em decúbito dorsal horizontal sobre uma prancha de madeira de 30x35 centímetros (cm) e fixado pelas patas, com fitas adesivas (Figura 2). A seguir, realizou-se a anti-sepsia com álcool iodado a 2%. Na seqüência foi colocado um campo fenestrado para delimitar campo operatório (Figura 3).

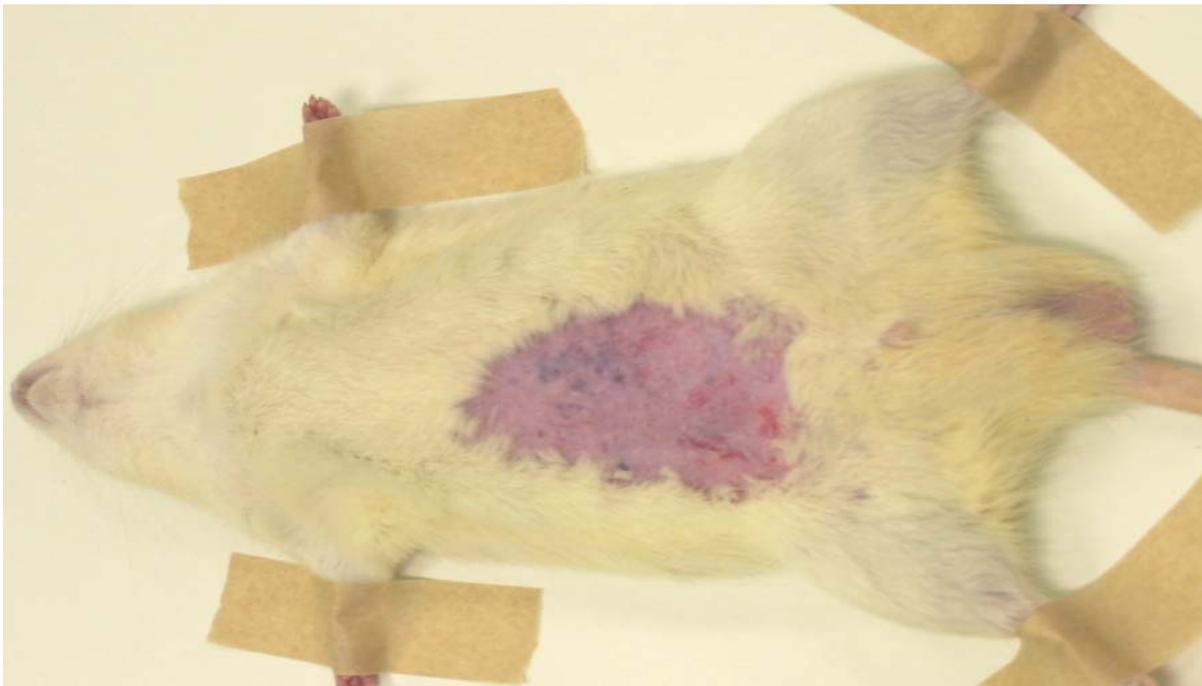


Figura 2: *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar posicionado em decúbito dorsal horizontal.

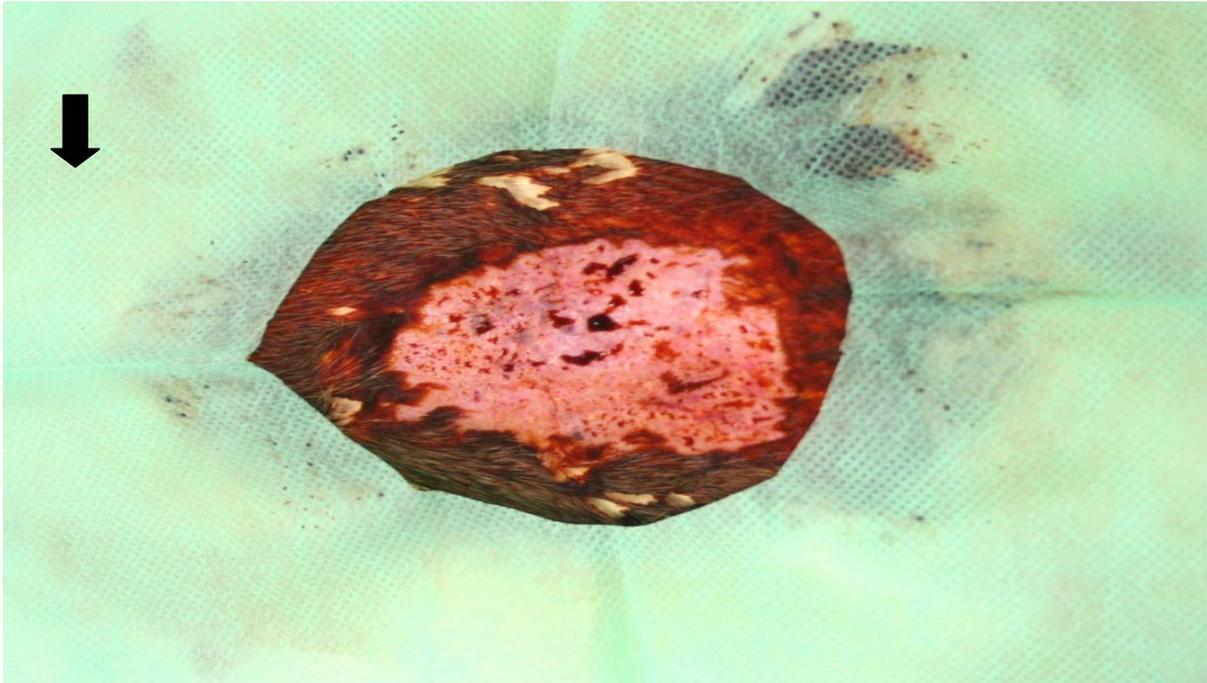


Figura 3 - Campo operatório inicial (após anti-sepsia e colocação do campo fenestrado). Seta indicando a região cefálica do animal.

A incisão longitudinal mediana na região caudal do abdome, de aproximadamente 5 cm, foi realizada com bisturi de lâmina número 15. Com tesoura de Metzenbaum foi executada a secção da musculatura abdominal, para a exposição total da cavidade abdominal (laparotomia mediana). Aberta a cavidade, a próxima etapa foi a coleta de urina por punção direta da bexiga, sendo a mesma colocada em frasco com tioglicolato e em seqüência encaminhada para o laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina para análise conforme descrito nos procedimentos laboratoriais (Figuras 4 e 5).

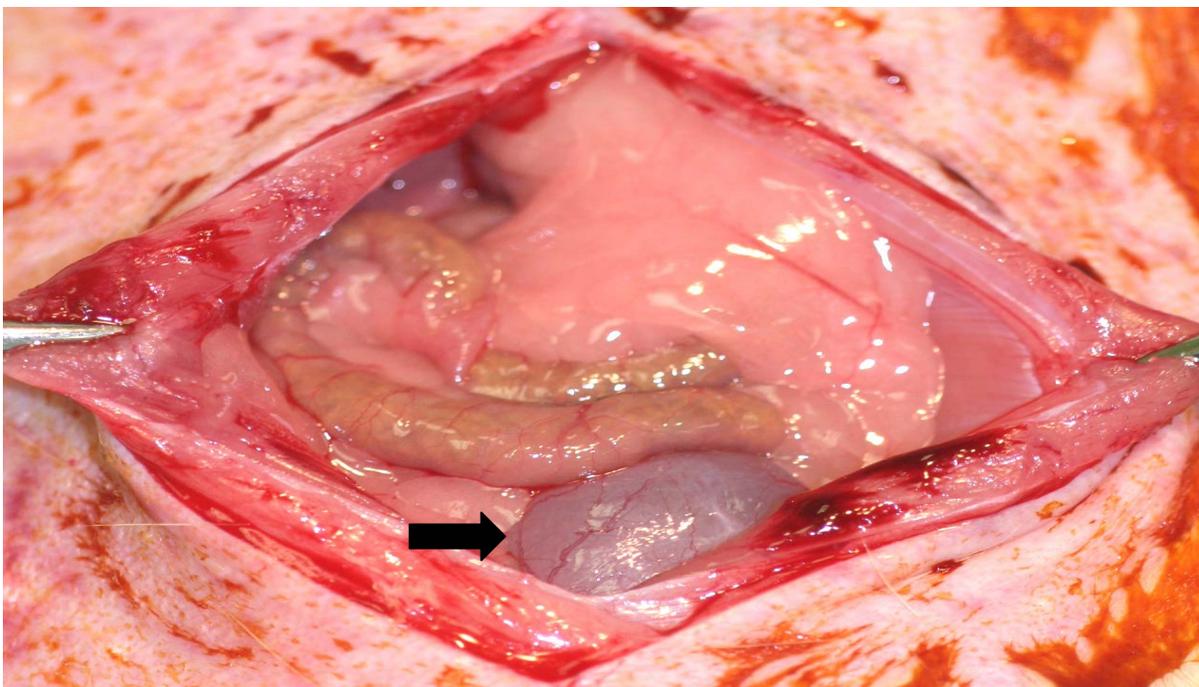


Figura 4 - Cavity livre para a coleta de urina e ligadura do ureter. Seta indicando a bexiga.

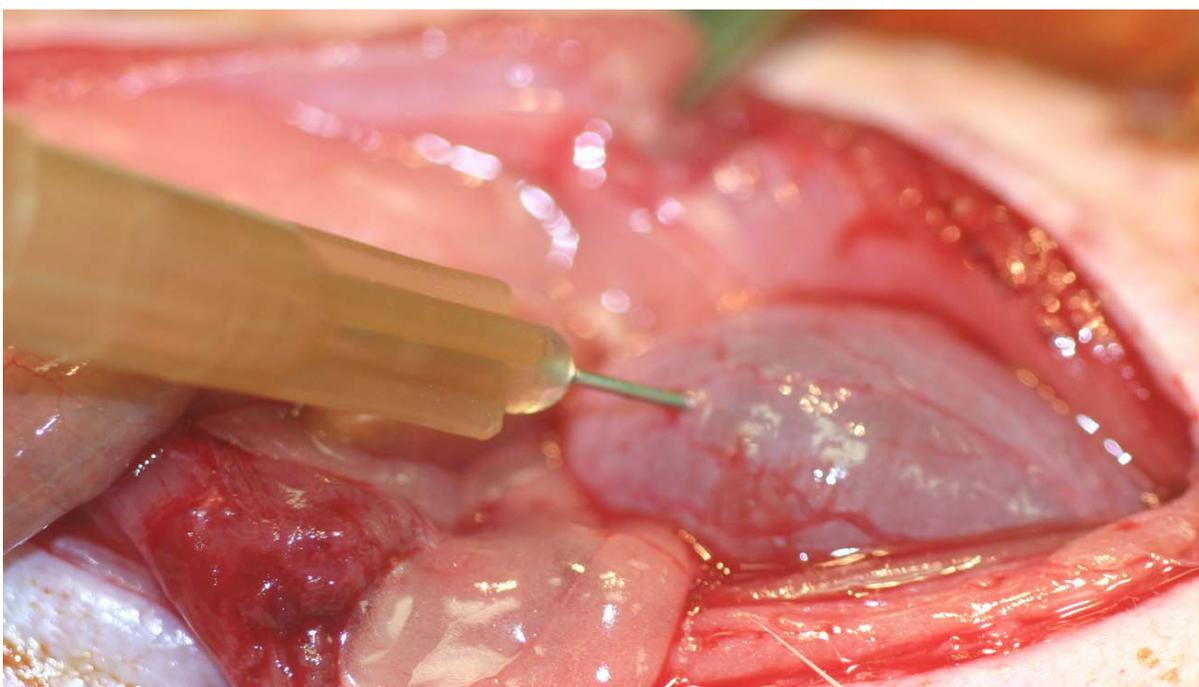


Figura 5 - Coleta de urina da bexiga por punção.

Em seguida, no subgrupo Experimento, foi identificado e isolado o ureter esquerdo (Figura 6). Após o isolamento do terço médio do ureter esquerdo, foram realizadas duas ligaduras com categute 3.0 entre as mesmas e uma secção total com tesoura de Metzenbaum (Figura 7).

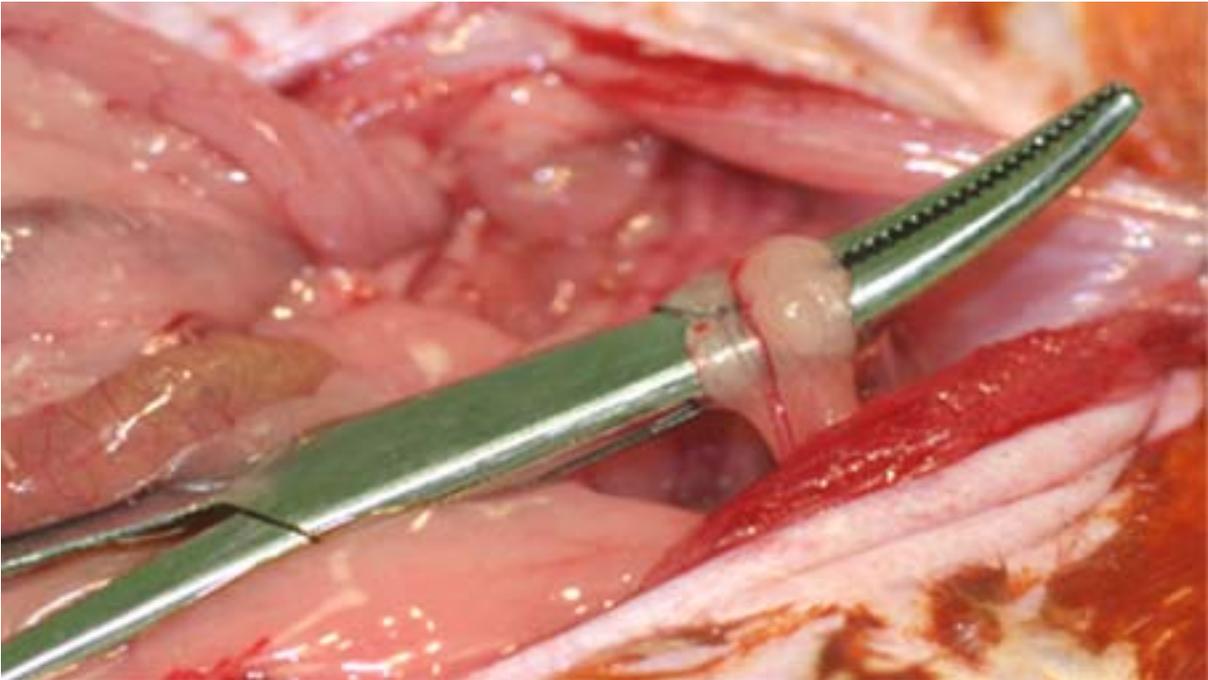


Figura 6 - Laparotomia com identificação do ureter esquerdo.

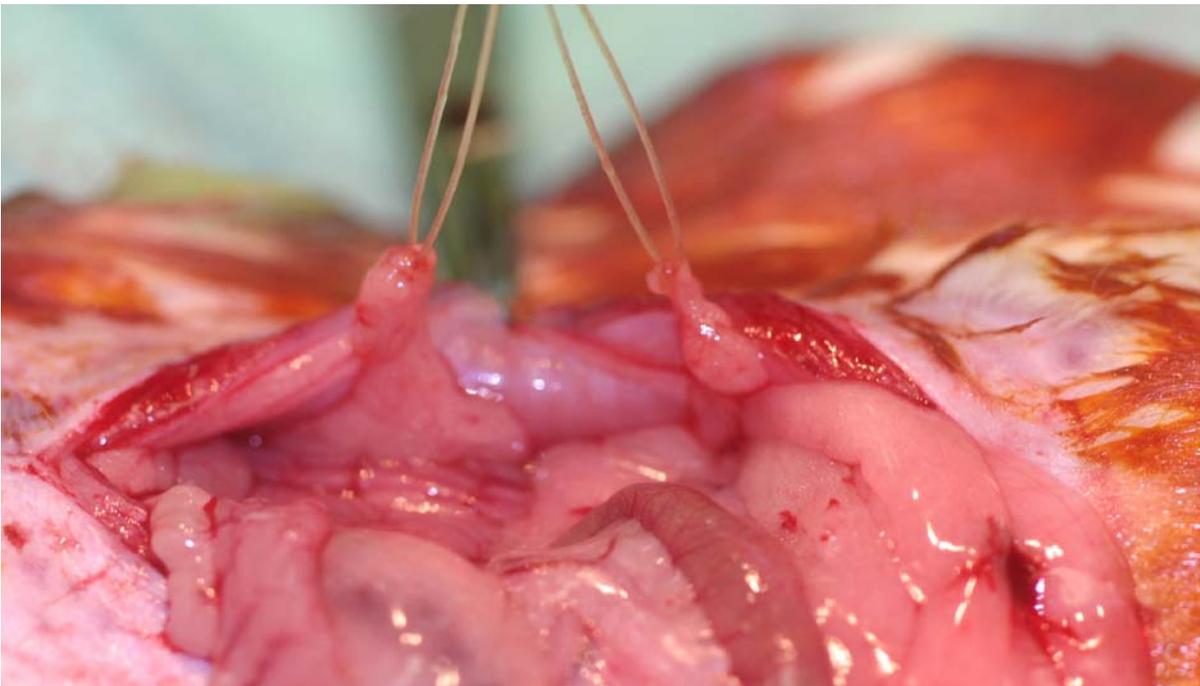


Figura 7- Ligadura e secção do ureter esquerdo com fio de categute simples 3-0.

O fechamento da cavidade foi realizado com fio inabsorvível (Mononylon® 3-0), com pontos contínuos em dois planos: camada músculo-aponeurótica e pele (Figura 8).



Figura 8 - Fechamento da cavidade com Mononylon® 3-0 (camada músculo-aponeurótica).

Recuperação Pós-Anestésica:

Os animais receberam como analgésico o medicamento paracetamol em gotas (10mg Kg/dose), juntamente com a água, em quatro administrações diárias. As características ambientais, de alimentação e de hidratação não foram alteradas (Figura 9).



Figura 9: *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar em recuperação pós-anestésica imediata.

Procedimento de Eutanásia

Após a eutanásia, por aprofundamento da anestesia (Apêndice 3), o animal foi colocado sobre prancha de madeira e novamente submetido à laparotomia mediana, realizando-se a nefrectomia esquerda. (Figuras 10, 11 e 12).



Figura 10 - Rim esquerdo após 2 dias de obstrução.

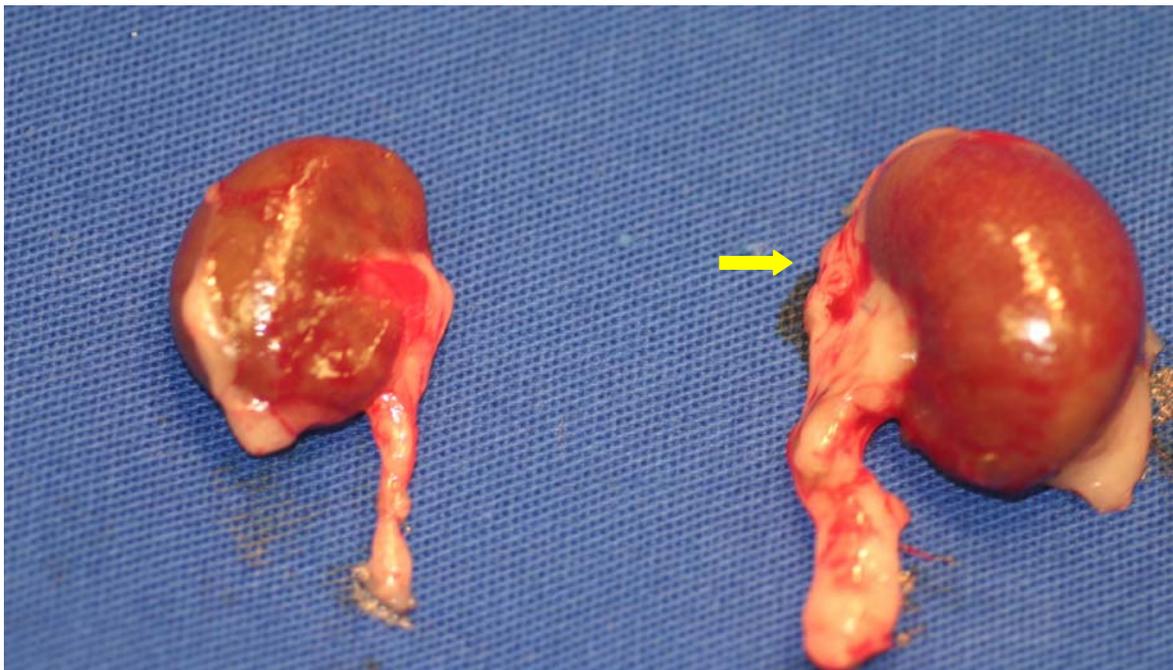


Figura 11: Rim esquerdo (seta) após 7 dias de obstrução (comparado com o rim contra-lateral).



Figura 12: Segmento de rim esquerdo que foi encaminhado para a cultura.

Procedimentos Laboratoriais

A urina coletada da bexiga dos ratos antes do procedimento de ligadura, bem como o segmento renal, foram encaminhados para o laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, e submetidos à coloração de Gram e cultura em meio de ágar-sangue, após permanecer 24h em tioglicolato, em estufa bacteriológica a 37° C (Figuras 13, 14 e 15).



Figura 13: Urina sendo semeada em caldo enriquecedor (tioglicolato).

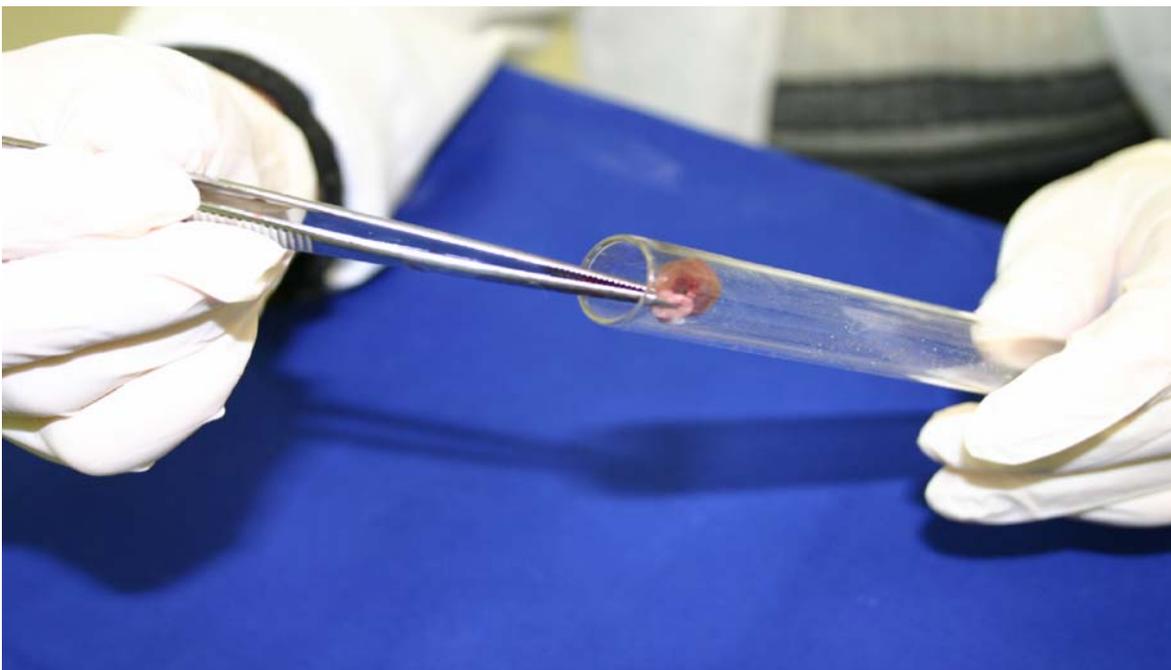


Figura 14: Segmento de rim sendo colocado em tioglicolato.

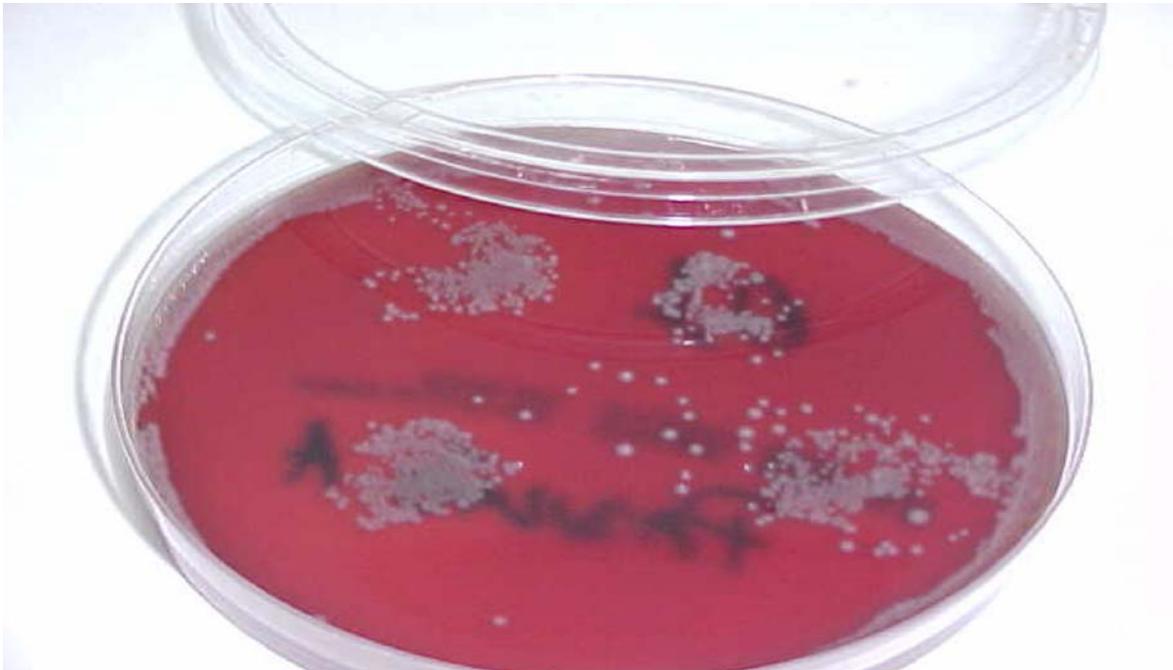


Figura 15: Placa de ágar-sangue demonstrando o crescimento bacteriano, em cultura de urina.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi empregado o teste do Qui quadrado na comparação de duas proporções com correção do teste exato de Fisher, no nível de significância de 95%.

4 RESULTADOS

Não houve óbito entre os 40 animais utilizados para o experimento.

Todos os animais evoluíram sem intercorrências.

TABELA 1 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no segundo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com o crescimento bacteriano na amostra de urina

Subgrupo	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Experimento 2	1* (10%)	9 (90%)	10 (100%)
Sham 2	0 (0%)	10 (100%)	10 (100%)

$p > 0,05$

A bactéria isolada foi *Escherichia coli*.

TABELA 2 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no segundo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com o resultado das culturas do segmento renal

Subgrupo	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Experimento 2	9 (90%)	1 (10%)	10 (100%)
Sham 2	2 (20%)	8 (80%)	10 (100%)

$p = 0,007$ $X^2 = 7,27$

TABELA 3 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no segundo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com as bactérias identificadas nas culturas do segmento renal

Subgrupo	Bactérias						
	<i>Klebsiela sp</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>S. viridans</i>
Experimento 2	1	2	2	1	3	1	0
Sham 2	0	1	1	0	1	0	0

TABELA 4 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no sétimo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com o crescimento bacteriano na amostra de urina

Subgrupo	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Experimento 7	1* (10%)	9 (90%)	10 (100%)
Sham 7	0 (0%)	10 (100%)	10 (100%)

$p > 0,05$

A bactéria isolada foi *Streptococcus viridans*.

TABELA 5 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no sétimo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com o resultado das culturas do segmento renal

Subgrupo	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Experimento 7	7 (70%)	3 (30%)	10 (100%)
Sham 7	1 (10%)	9 (90%)	10 (100%)

$p = 0,02$ $X^2 = 5,21$

TABELA 6 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento e sham, submetidos à eutanásia no sétimo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com as bactérias identificadas nas culturas do segmento renal

Subgrupo	Bactérias						
	<i>Klebsiela sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>S. viridans</i>
Experimento 7	0	3	0	2	1	0	1
Sham 7	0	1	0	0	0	0	0

TABELA 7 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento, submetidos à eutanásia no segundo e sétimo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com o resultado das culturas do segmento renal

Subgrupo	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Experimento 2	9 (90%)	1 (10%)	10 (100%)
Experimento 7	7 (70%)	3 (30%)	10 (100%)

$p > 0,05$

TABELA 8 - Apresentação dos animais dos subgrupos experimento, submetidos à eutanásia no segundo e sétimo dia após o procedimento, distribuídos de acordo com as bactérias identificadas nas culturas do segmento renal

Subgrupo	Bactérias						
	<i>Klebsiela sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>S. viridans</i>
Experimento 2	1	2	2	1	3	1	0
Experimento 7	0	3	0	2	1	0	1

5 DISCUSSÃO

O estudo da relação entre a obstrução ureteral e a população bacteriana no trato urinário superior de ratos Wistar foi estimulado pelo conhecimento de que o trato urinário é, normalmente, considerado isento de crescimento bacteriano². Outro estímulo ao estudo é que a obstrução do trato urinário, seja por causas intrínsecas ou extrínsecas, é um dos problemas mais comumente enfrentados em urologia.¹² Além disso, a maior parte do nosso conhecimento sobre a fisiopatologia da uropatia obstrutiva é derivada de estudos em uma variedade de animais^{12,13}, ressaltando-se a dificuldade desses estudos em seres humanos.

A idéia de estudar a obstrução ureteral, como fator isolado, para o desencadeamento de crescimento bacteriano na unidade renal acometida, foi reforçada pelo fato de terem-se encontrado na literatura apenas estudos nos quais a pielonefrite experimental havia sido reproduzida pela inoculação de bactérias nas mais variadas vias (diretamente no rim, por via hematogênica ou ascendente).^{16,17,18,19,20,21,22} No entanto não foram localizados trabalhos relacionando apenas a obstrução ureteral como fator determinante para o aumento da população bacteriana, predispondo à infecção do trato urinário.

Com a finalidade de comprovar a inexistência de bactérias em uma unidade renal normal de um rato albino da raça Wistar, com as características dos utilizados no presente estudo experimental, sem qualquer manipulação sobre o ureter, realizou-se coletas de urina por punção da bexiga e de tecido renal durante laparotomias. As possibilidades do exame não demonstrar bactérias, seriam principalmente em decorrência de uma técnica de coleta inadequada (contato com solução antisséptica) ou uso de antimicrobiano prévio,² situações que foram evitadas nos animais em estudo.

A análise através da coloração de Gram forneceu um controle para os resultados das culturas.

Para chegar até a semeadura nas placas de Petry, as amostras coletadas foram submetidas à imersão em um meio enriquecedor. Neste estudo utilizou-se o tioglicolato, sendo que a amostra de urina coletada ou o fragmento de rim permaneceu durante 24 horas imersa neste meio líquido de enriquecimento, em uma estufa bacteriológica a 37° Celsius^{28,29}. Somente então foram as amostras semeadas em meio de ágar-sangue.

A finalidade deste procedimento foi levar a uma reprodução bacteriana facilitada, aumentando a possibilidade de crescimento e identificação dos germes, quando semeados, posteriormente, em ágar-sangue, o qual demonstrou ser um meio cultura adequado e de fácil acesso.^{30,31,32}

A opção pelo meio de ágar-sangue foi com o objetivo de se estudar os germes aeróbicos, pois apresentam fácil crescimento neste meio de cultura.^{30,31,32}

Confirma a opção adequada deste meio de cultura o fato de as infecções por germes anaeróbicos ser uma exceção no trato urinário.⁴

Dentre as principais vias de acesso dos microorganismos ao trato urinário, a via ascendente, pela uretra, é considerada a mais freqüente. Para que não houvesse a possibilidade de contato direto ou indireto com a uretra, reconhecidamente colonizada, obteve-se amostra de urina por punção da bexiga (considerada a forma de coleta com menor risco de contaminação), eliminando-se a possibilidade de colonização urinária.³³

Assim, em 10 animais, sem o procedimento de ligadura do ureter, as amostra de urina e de um segmento renal foram semeadas, conforme descrito no método. Somente nas duas amostras recolhidas de um mesmo animal ocorreu crescimento bacteriano no meio de cultura utilizado, isolando-se *Escherichia coli*, resultados estes encontrados durante o experimento piloto (Apêndice 2).

O trato urinário é, normalmente, isento bactérias, o que levou à sugestão de que as culturas positivas (urina e segmento renal) em apenas um rato do subgrupo Piloto relacionaram-se a contaminação, principalmente levando em conta que a bactéria isolada foi a *Escherichia coli* (*E Coli*), a qual é considerada uma contaminante muito freqüente durante a coleta da urina, ou no seu manuseio, ou no momento da semeadura, uma vez que se tratou de um acontecimento isolado.² Outra possibilidade a ser considerada é que o animal apresentasse alguma doença prévia não percebida.

A opção de realizar a eutanásia dos ratos 2 e 7 dias após os procedimentos citados acima se baseou em outro estudo que avaliou a pielonefrite após obstrução ureteral transitória, neste mesmo prazo.³⁴

Com base nestes achados iniciais (piloto), prosseguiu-se com o experimento, e de acordo com a distribuição em subgrupos, a urina coletada por punção vesical dos 10 animais do subgrupo Experimento 2 (E2), no dia da ligadura ureteral, demonstrou

crescimento bacteriano em uma das 10 amostras coletadas. É bem provável que este resultado possa ter sido também decorrente de doença prévia ou da contaminação durante o manuseio do animal ou durante a semeadura da amostra no tioglicolato, pois o agente infectante foi novamente a *E Coli*, confirmando os dados da literatura que indicam ser a presença de bactérias na urina uma exceção (Tabela 1).²

No mesmo dia a análise da urina coletada de 10 animais do subgrupo Sham 2 (S2) não demonstrou crescimento bacteriano em nenhuma das amostras (Tabela 1). A comparação entre os dois grupos, pelo teste estatístico utilizado, não demonstrou significância estatística ($p>0,05$).

Transcorridos 2 dias, foram efetuados os sacrifícios dos animais do subgrupo Experimento 2 (E2), realizando-se a nefrectomia esquerda, sendo encaminhado o tecido renal para cultura.

A análise das placas apresentou crescimento bacteriano em 9 das 10 culturas renais, havendo desenvolvimento de múltiplas espécies (Tabela 2): *Klebsiela*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp* e *Streptococcus viridans*, comprovando a existência de numerosos microorganismos no parênquima e sistema coletor renal. Esse fato, contrasta com o subgrupo Sham 2 (S2), no qual houve o desenvolvimento de colônias bacterianas em somente duas das dez culturas renais, identificando-se *Escherichia coli* e *Enterobacter sp* em um animal e *Staphylococcus sp* em outro (Tabela 3). A comparação dos resultados obtidos nos subgrupos estudados apresentou significância estatística ($p=0,007$), demonstrando que o achado de microorganismos na cultura renal não ocorreu ao acaso (Tabela 2), e que o método empregado foi adequado.

A urina coletada dos 10 animais do subgrupo Experimento 7 (E7) demonstrou crescimento bacteriano em 1 das 10 amostras, identificando-se *Streptococcus viridans*, comprovadamente um contaminante.² Na seqüência, a urina dos 10 animais do subgrupo Sham 7 (S7), não demonstrou crescimento bacteriano em nenhum dos animais (Tabela 4), sendo que a comparação estatística entre os dois subgrupos não demonstrou diferença estatística significante ($p>0,05$).

Após 7 dias, os animais do subgrupo Experimento 7 (E7) foram sacrificados e submetidos à nefrectomia esquerda. Tal procedimento foi realizado igualmente nos ratos do subgrupo Sham 7 (S7). Foi demonstrado o crescimento bacteriano em 7 das 10 amostras de

tecido renal, retiradas dos animais nos quais o ureter foi ligado (Tabela 5), identificando-se *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp* e *Streptococcus viridans* (Tabela 6). No subgrupo S7 foi evidenciado crescimento bacteriano em apenas uma das 10 amostras identificado como *Staphylococcus sp*. Ao comparar os resultados dos subgrupos cujo sacrifício ocorreu em 7 dias, obteve-se significância estatística ($p=0,02$), com nova demonstração de que a observação de crescimento bacteriano nas culturas de rim não ocorreu ao acaso e evidenciando que existe uma associação entre a obstrução mecânica aguda do ureter e a ocorrência de crescimento bacteriano na unidade renal acometida (Tabela 5).

Os animais dos subgrupos Experimento (E2 e E7) apresentaram uma alta incidência crescimento bacteriano, reforçando a relação entre a presença de obstrução ureteral mecânica e aumento da população bacteriana na unidade renal obstruída .

A comparação entre os resultados das culturas das peças operatórias (segmentos renais) dos subgrupos Experimento 2 (E2) e Experimento 7 (E7) não demonstrou significância estatística ($p>0,05$), de modo que a variação de tempo entre os procedimentos de eutanásia (dois e sete dias), aparentemente não influenciou o aumento da população bacteriana (Tabela 7). Provavelmente haveria eventos facilitadores da ocorrência deste crescimento bacteriano, como os focos de necrose medular, confinado à região das papilas e fôrnices, os quais podem fornecer um local para a invasão bacteriana,³⁴ embora não demonstrados nesse trabalho.

Foi demonstrado que as bactérias identificadas em ambos os subgrupos Experimento (E2 e E7) foram semelhantes (Tabela 8), confirmando o crescimento de enterobactérias e *Staphylococcus* que são microorganismos frequentes em infecções do trato urinário.⁴

Sabe-se que para a ocorrência de ITU é necessária a presença do microorganismo dentro do trato urinário, e entre os fatores facilitadores deste evento destacam-se os relacionados à bactéria e aos mecanismos de defesa do hospedeiro.

O fator bacteriano mais importante nas enterobactérias é o seu poder de aderência ao urotélio.³⁵ Diferentes tipos de fatores que possibilitam as aderências podem ser encontrados na superfície da parede celular da bactéria. Um dos fatores mais conhecidos é o chamado pili tipo 1 da *E. coli*, denominado manose-sensitivo, porque adere a receptores

de manose na superfície celular do urotélio.³⁶ As fimbrias tipos “p” são pili que aderem a outros sítios celulares existentes nas células uroteliais.³⁷

A presença de fimbrias em abundância na *E. coli* explica a sua grande habilidade em ascender ao trato urinário e ser encontrada em praticamente 90% das pielonefrites agudas não complicadas.³⁷

As bactérias uma vez aderidas iniciam sua multiplicação, dependendo das condições locais como temperatura, pH e características da urina, tais como a osmolaridade, a concentração de uréia e de ácidos orgânicos, além da presença de glicose entre outros. Cada germe se multiplica no seu próprio ritmo e geralmente produz substâncias que facilitam sua multiplicação e invasão dos tecidos. A substância mais estudada é a hemolisina, polipeptídeo que lisa eritrócitos e causa dano a outras células, incluindo as do urotélio. Somente algumas cepas de *E.coli* exibem esta proteína, encontrada em bactérias que causam ITU.³⁸ Outras enzimas produzidas por enterobactérias incluem as elastases, colagenases e outras enzimas proteolíticas.⁹

Dentre os fatores relacionados às defesas do hospedeiro, são considerados importantes uma produção hormonal estrogênica normal em mulheres³⁸, algumas características da urina como a osmolaridade, a concentração de uréia, pH e a concentração de ácidos orgânicos. A osmolaridade alta ou baixa, especialmente quando associada a pH ácido, tem efeito inibitório no crescimento bacteriano. Tanto a alta concentração de uréia como a de ácidos orgânicos inibem a proliferação bacteriana.³⁹

Outros fatores considerados facilitadores de ITU são a glicosúria, níveis baixos da proteína de Tamm-Horsfall (a qual satura os receptores de manose do tipo pili 1, impedindo a aderência de bactérias ao epitélio) e alteração no revestimento de mucopolissacarídeos da bexiga.⁹

A resposta imunológica envolve a produção de imunoglobulinas séricas e renais, constituindo anticorpos tipo específicos⁹, além de aumento dos neutrófilos (abundantes na urina e mucosa das vias urinárias infectadas), os quais possuem um papel essencial na destruição bacteriana e na resistência natural do aparelho urinário à infecção.⁴⁰

Finalmente o mecanismo de defesa do hospedeiro considerado o mais importante é o fluxo urinário contínuo desde a pelve renal até a uretra sem obstáculos, já que este fator evita a estase urinária.⁹ Dentre todos os fatores citados, incluindo os relacionados à bactéria

e aos mecanismos de defesa do hospedeiro, o único modificado pelo nosso estudo foi o fluxo livre da urina.

A forma como a bactéria atingiu o rim obstruído permanece incerta, pois a via mais comumente envolvida (ascendente) foi presumivelmente descartada pela ausência de crescimento de microorganismos nas culturas de urina coletadas por punção no dia da ligadura ureteral, além da própria descontinuidade criada no ureter no momento da ligadura e secção do mesmo, buscando impedir a migração de germes por esta via.

A literatura aponta que uma das possibilidades seria a existência de microorganismos não detectados pelos testes convencionais (situação evidenciada em alguns estudos^{25,26,27}), os quais colonizariam o urotélio sem causar bacteriúria e que pela estase urinária teriam sua proliferação facilitada, dificultando a ação dos mecanismos de defesa humoral e celular.⁹ Associada a isto existe a evidência de que a obstrução ureteral em ratos rapidamente induz a focos de necrose medular, confinadas às regiões das papilas e fôrnices, sendo que este tipo de lesão pode favorecer a invasão bacteriana.³⁴

Outra possibilidade a ser considerada é que as bactérias tenham atingido o rim por via hematogênica; porém, apesar de não haver dúvidas de que a presença de obstrução favorece este mecanismo de infecção urinária, é pouco provável que as enterobactérias tenham atingido o rim por esta via, pois seria necessário um episódio de bacteremia de origem extra-urinária²⁵, embora nem todas as bacteremias tenham expresso seu significado clínico em ratos, como eriçamento de pêlos e diminuição da mobilidade, culminando em óbito por sepse, e não tenha sido feita hemocultura para descartar isso.

Embora o rim esteja em situação retroperitoneal, não se pode excluir a contaminação por translocação bacteriana (via linfática) causada por situação adversa no parênquima renal provocada pela obstrução (áreas de necrose)³⁴ e pela proximidade do colo descendente justaposto à loja renal esquerda. Porém, os animais não apresentaram obstrução intestinal ou abscessos intra ou retroperitoneais, situações habitualmente encontradas em pacientes com infecção urinária por esta via⁹ e não identificada durante os procedimentos realizados no sacrifício do animal.

Acredita-se que a urina seja estéril enquanto o seu sistema de drenagem renal se mantém íntegro e o seu fluxo é contínuo. Entretanto, a partir de uma obstrução, conseguiu-se comprovar experimentalmente a contaminação de um sistema agora fechado.

A estase urinária ao contrário do fluxo livre da urina aumenta a severidade do processo infeccioso, pois a presença de urina residual é um excelente meio de cultura propiciando uma maior proliferação bacteriana e facilitando a aderência destes microorganismos a mucosa urotelial, dificultando a ação dos mecanismos de defesa humoral e celular.⁹

Tem-se, dessa forma, que a fonte bacteriana para tal situação é desconhecida e, portanto deve ser perseguida em uma nova etapa experimental.

O modelo experimental criado possibilita a abertura de uma linha de pesquisa para futuros trabalhos com a finalidade de avaliar quantitativamente o número de colônias na unidade renal obstruída, definir a forma exata de como o processo infeccioso se instala, avaliar o potencial de recuperação do rim obstruído após a desobstrução e confirmar a presença de microorganismos, especificamente nas áreas de necrose, causadas pela obstrução, entre outros.

6 CONCLUSÃO

A obstrução ureteral unilateral determinou aumento da população de bactérias aeróbicas, na unidade renal acometida, em ratos Wistar.

7 REFERÊNCIAS

1. Rubinstein I, Rubinstein M. Infecção do trato urinário – aspectos gerais. In: Wroclawski ER, Bendhacck DA, Damião R, Ortiz V (eds). Guia prático de Urologia. 1ª ed. São Paulo; 2003. p.3-7.
2. Schaeffer AJ. Infection of the urinary tract. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughn ED, Wein AJ (eds.). Campbell's Urology. 8ª ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p. 515-602.
3. Naber KG. Experience with the new guidelines on evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. *Int J Antimicrobial Agents* 1999;11:189-96.
4. Graham JC, Galloway A. ACP Best Practice N° 167: The laboratory diagnosis of urinary tract infection. *J Clin Pathol* 2001;54:911-9.
5. Wahl RA, Shapiro E, Elliott SP, Binkiewicz AIS. Office laboratory procedures, office economics, parenting and parent education, and urinary tract infection. *Curr Opin Pediatr* 2001;13:603-15
6. Stamey TA, Sexton CC. The role of vaginal colonization with enterobacteriaceae in recurrent urinary infections. *J Urol* 1975;214:214-7.
7. Fowler JE, Stamey TA. Studies of introital colonization in women with recurrent urinary infections VII. The role of bacterial adherence. *J Urol* 1977;117:472-6.
8. Stamey TA, editor. Pathogenesis and treatment of urinary tract infections. Baltimore: Willians & Wilkins; 1980.
9. Koff WJ, Fonseca CEC, Mattos Jr D. Fisiopatologia da Infecção do trato urinário. *International Braz J Urol* 2003;29(3):11-4.
10. Smellie JM, Edwards O, Hunter. Vesicoureteral reflux and renal scarring. *Kidney Int* 1975;8:565-70.
11. Anderson RU. Management of lower urinary tract infections and cystitis. *Infections in urology. Urol Clin North Am* 1999;26:729-35.
12. Capelouto CC, Saltzman B. The pathophysiology of ureteral obstruction. *J Endourol* 1993;7(2):93-103.
13. Wen JG, Frokiaer J, Jorgensen TM, Djurhuus JC. Obstructive nephropathy: an update of the experimental research. *Urol Res* 1999;27:29-39.
14. Klahr S. Urinary tract obstruction. *Semin Nephrol* 2001;21(2):133-45.
15. Misseri R, Rink RC, Meldrum DR, Meldrum KK. Inflammatory mediators and growth factors in obstructive renal injury. *J Surg Res* 2004;119(2):149-59.
16. Gilbert RM, Weber H, Turchin L, Fine LG, Bourgoignie JJ, Bricker NS. A study of the intrarenal recycling of urea in the rat with chronic experimental pyelonephritis. *J Clin Invest* 1976;58:1348-57.

17. Serlachius E, Sundelin B, Eklof AC, Jahnke M, Laestadius A, Aperia A. Pyelonephritis provokes growth retardation and apoptosis in infant rat renal cortex. *Kidney Int* 1997;51:1855-62.
18. Slotki IN, Asscher AW. Prevention of scarring in experimental pyelonephritis in the rat by early antibiotic therapy. *Nephron* 1982;30:262-8.
19. Cotran RS, Thrupp LD, Haij SN, Zangwill DP, Vivaldi E, Kass EH. Retrograde *E. coli* pyelonephritis in the rat: a bacteriologic, pathologic, and fluorescent antibody study. *J Lab Clin Med* 1963;61:987-1004.
20. Gorrill RH. The effect of obstruction of the ureter on the renal localization of bacteria. *J Path Bact* 1956;72:59-71.
21. Guze LB, Beeson PB. Experimental pyelonephritis I. Effect of ureteral ligation on the course of bacterial infection in the kidney of the rat. *J Exper Med* 1956;104:803-15.
22. Guze LB, Hubert E, Kalmanson GM. Pyelonephritis VI. Observations of the effects of congenital, partial ureteral obstruction on susceptibility of the rat kidney to infection. *J infect Dis* 1965;115:500-5.
23. Shortliffe LMD, Hansen MH, Wang B, Afzal N, Boineau FG, Lewy JE. Effect of urinary tract infection on ureteropelvic junction obstruction in a rat model. *Urol* 2003;61(4):858-63.
24. Prat V, Losse H, Konickova L, Ritzerfeld W. Experimental ascending *Escherichia coli* pyelonephritis in the rat. *Invest Urol* 1970;8:311-8.
25. Elliott TS, Reed L, Slack RC, Bishop MC. Bacteriology and ultrastructure of the bladder in patients with urinary tract infections. *J Infect* 1985;11:191-9.
26. Hultgren SJ, Porter TN, Schaeffer AJ, Duncan JL. Role of type 1 pili and effects of phase variation on lower urinary tract infections produced by *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1985;50:370-7.
27. Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, Roth R, Parks WC, Heuser J et al. Induction and evasion of host defenses by type 1 -piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* 1998;282:1494-7.
28. Cauduro PF, Mezzari A, Birck E. Hemocultura. *Rev Bras Anal Clin* 1989;21(2):41-3.
29. Mendes IF, Pral EMF, Takata CS, Rizzo E, Saito T. Estudo comparativo de meios de cultura recomendados para testes de esterilidade de produtos biológicos. *Rev Farm Bioquim* 1985;21(1):62-70.
30. De Louvois J. Factors influencing the assay of antimicrobial drugs in clinical samples by the agar plate diffusion method. *J Antimicrob Chemother* 1982;9(4):253-65.
31. Mendonza T, Garcia de los Rios M, Lafourcade M, Soto C, Durruty P, Alvo M. Asymptomatic bacteriuria in type 2 diabetics women. *Rev Med Chil* 2002;130(9):1001-7.
32. McLoughlin TG Jr, Joseph MM. Antibiotic resistance patterns of uropathogens in pediatric emergency department patients. *Acad Emerg Med* 2003;10(4):347-51.

33. Stamm WE. Infecções do trato urinário e pielonefrite. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. (eds) Harrison medicina interna, 15^a ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2002. p.1714-21.
34. Bitz H, Darmon D, Goldfarb M, Shina A, Block C, Rosen S et al. Transient ureteral obstruction predisposes to ascending pyelonephritis and tubulo-interstitial disease: studies in rats. *Urol Res* 2001;29:67-73.
35. Schaeffer AJ, Jones JM, Dunn JK. Association of in vitro *E. coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent UTI. *N Eng J Med* 1981;304:1262-8.
36. Ofek I, Mirelman D, Sharon N. Adherence of *Escherichia coli* in human mucosal cells mediated by manose receptors. *Nature* 1977;265:623-5.
37. Neal Jr DE. Host defense mechanisms in urinary tract infections. *Urol Clin North Am* 1999;216:677-86.
38. Low D, David V, Lark D, Schoolnik G, Falkow S. Gene clusters governing the production of hemolysin and mannose-resistant hemagglutination are closely linked in *Escherichia coli* serotype O4 and O6 isolates from urinary tract infections. *Infect Immun* 1984;43:353-8.
39. Hooton TM, Scholes D, Hughes JP, Winter C, Roberts PL, Stapleton AE et al. A prospective study of risk factors for symptomatic urinary infection in young women. *N Engl J Med* 1996;335:468-74.
40. Haraoka M, Hang L, Frendeus B, Godaly G, Burdick M, Strieter R et al. Neutrophil recruitment and resistance to urinary tract infection. *J Infect Dis* 1999;180:1220-9.

8 NORMAS ADOTADAS

1. Normas para elaboração de Dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas

Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências da Saúde. Mestrado em Ciências Médicas.

2. Normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver)
3. d'Acampora AJ. Investigação experimental. Do planejamento a redação final. 1ª. ed. Florianópolis, Papa Livros, 2001. 81p.
4. Caldas Aulete. Dicionário contemporâneo da Língua Portuguesa. 5 ed. Rio de Janeiro: Delta; 1964.
5. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 01/88: normas de pesquisa em saúde. Bioética; 1995; 3:137-54.
6. DeCS - Descritores em Ciências da Saúde. 3.ed. São Paulo: Bireme; 1996. 1146p.
7. Ferreira LM, Goldenberg S, Nahas FX, Ely PB. Orientação normativa para elaboração e apresentação de teses. São Paulo: CEDCP; 2003. 53p.
8. Houaiss A, Villar MS. Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro: Objetiva; 2001. 2925p.
9. International Committee of Medical Journal Editors - Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References [online]. Bethesda: National Library of Medicine; 2003 [updated 2003 Jul 9; cited 2004 Oct 13]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
10. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature - Nomina anatomica veterinaria. 3.ed. New York: Ithaca, 1983. 216p.
11. International Index of Laboratory Animals. Festing MFW(comp.). 6.ed. England, 1993.
12. International Serials Data System and International Organization for Standardization - Liste d'abbreviations de mots des titres de publications en série: conforme a ISO 4-1984/ List of serial title word abbreviation in accordance with ISO 4-1984. Paris: ISDS/ISSO; 1985. 215p.
13. Laudelino Freire. Grande e novíssimo dicionário da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte, Recife e Porto Alegre: Livraria José Olympio; 1954.
14. Luft C. Novo guia ortográfico: sistematização prática e didática das normas ortográficas vigentes, com riqueza de exemplificação e copioso vocabulário. 28. ed. São Paulo: Globo; 1998. 156p.
15. Oliveira E, Bernd ME. Escreva certo. Porto Alegre: L&PM; 2002. 141p.

9 APÊNDICES

APÊNDICE 1

Certificado de Credenciamento da Comissão de Ética no Uso de Animais.

APÊNDICE 2:

GRUPO PILOTO – P (n=10): Neste grupo, os animais foram submetidos à laparotomia e coleta de amostra de urina diretamente da bexiga, bem como nefrectomia à esquerda, sendo ambos (urina e tecido renal) submetidos a estudo por cultura em meio de ágar-sangue, após permanecer 24h em tioglicolato, em estufa bacteriológica a 37° C, sem que houvesse qualquer outro procedimento (Tabela 1):

TABELA 1 - Resultado das culturas de urina e tecido renal do subgrupo Piloto

Material	Cultura positiva		Total (%)
	Sim (%)	Não (%)	
Urina	1* (10%)	9 (90%)	10 (100%)
Tecido Renal	1* (10%)	9 (90%)	10 (100%)

Ambas as culturas positivas ocorreram no mesmo animal, sendo isolada *Escherichia coli* na urina e tecido renal.

APÊNDICE 3
PROTOCOLO DE ANESTESIA

DATA:

HORA:

TEMPO:

PESO:

GRUPO:

RATO Nº:

INDUÇÃO ANESTÉSICA:

DOSE:

VIA:

HORA:

MANUTENÇÃO:

TÉRMINO:

DURAÇÃO DA ANESTESIA:

RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA:

OBSERVAÇÕES:

PROTOCOLO DE EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

DATA:

HORA:

GRUPO:

RATO N°:

PARÂMETROS:

1. POSTURA
2. MOVIMENTAÇÃO
3. ALIMENTAÇÃO
4. ÁGUA
5. VÔMITO
6. EVACUAÇÃO
7. DISTENSÃO ABDOMINAL
8. ERIÇAMENTO DE PÊLOS
9. HEMORRAGIA DE CONJUNTIVAS

PO. 0:.....

PO. 1:.....

PO. 2:.....

PO. 3:.....

PO. 4:.....

PO. 5:.....

PO.6:.....

PO.7:.....

**PROTOCOLO PARA EXAMES LABORATORIAIS COLETADOS NO DIA DO
PROCEDIMENTO CIRÚRGICO:**

DATA: _____ HORA: _____

PESO: _____ GRUPO: _____ RATO Nº: _____

URINA COLETADA DA BEXIGA POR PUNÇÃO:

COLORAÇÃO DE GRAM: ()NEGATIVA ()POSITIVA

UROCULTURA:

MEIO: ÁGAR-SANGUE

RESULTADO: POSITIVA () NEGATIVA ().

BACTÉRIA IDENTIFICADA:.....

PROTOCOLO DE NECRÓPSIA E EXAME MACROSCÓPICO DOS RINS:

DATA:

HORA:

PESO:

GRUPO:

RATO N°:

RIM OBSTRUÍDO ()

AUMENTO DO TAMANHO DO RIM: SIM () NÃO (). PESO:

DESCRIÇÃO:

EXAME DA SUPERFÍCIE EXTERNA DO RIM: EDEMA ()

HEMORRAGIA () PUS () FIBRINA () NECROSE ()

EXAME DO SISTEMA COLETOR E PARÊNQUIMA RENAL:

HIDRONEFROSE: SIM () NÃO ()

DESCRIÇÃO:

PRESENÇA DE EDEMA () HEMORRAGIA () PUS ()

FIBRINA () NECROSE ()

OBSERVAÇÕES:

OUTROS ACHADOS MACROSCÓPICOS:

**PROTOCOLO PARA EXAMES LABORATORIAIS DE TECIDOS COLETADOS
NO DIA DA NECRÓPSIA:**

DATA:

HORA:

PESO:

GRUPO:

RATO N°:

A) RIM OBSTRUÍDO

APÓS SECCIONAR O RIM EM DOIS NO SENTIDO TRANSVERSAL E
REALIZARMOS A RETIRADA DE UM SEGMENTO COM APROXIMADAMENTE
3MM, O MESMO FOI ENVIADO PARA:

COLORAÇÃO DE GRAM: ()NEGATIVA ()POSITIVA

CULTURA:

MEIO: ÁGAR-SANGUE

RESULTADO: POSITIVA () NEGATIVA ().

BACTÉRIA IDENTIFICADA:.....