

ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS

TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA EM RATOS RECEBENDO NUTRIÇÃO PARENTERAL

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Carlos Riella

CURITIBA
1992

À memória de meu pai
A minha mãe

Exemplos de vida e de amor
e dedicação aos filhos

A você, Jussara, e aos
nossos filhos Rodrigo,
Letícia e Heloísa, pela
compreensão e apoio

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Miguel Carlos Riella, Professor Titular de Clínica Médica da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná e Coordenador da Disciplina de Nutrição e Metabolismo em Cirurgia do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento pelo incentivo constante e pela orientação criteriosa deste trabalho.

Ao Professor Osvaldo Malafaia, Professor Titular e Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento pela criação do Doutorado em Clínica Cirúrgica nesta Universidade e pelo estímulo constante.

Ao Professor Júlio Cezar Uili Coelho, Professor Titular e Coordenador da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento pelas valiosas sugestões durante a elaboração deste trabalho e pelo constante apoio à minha carreira universitária.

Ao Professor Sérgio Brenner, Professor Titular da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento e gratidão pelas lições e exemplos recebidos durante minha formação profissional.

Ao Professor Michael M. Meguid, Professor de Cirurgia da Universidade Estadual de Nova York, meu agradecimento por acolher-me em seu Serviço, onde parte deste trabalho foi realizada, e pela oportunidade de adquirir experiência com pesquisa em suporte nutricional.

Aos colegas Dr Jorge Eduardo Fouto Matias e Dr Eduardo Sell Schulz meu agradecimento pela dedicação e pelo auxílio imprescindível na condução dos experimentos no Centro de Pesquisa do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná.

Ao Professor Kalil Madi, Professor Titular de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, meu reconhecimento pelo dinamismo e competência com que conduziu os estudos de anatomia patológica deste trabalho.

À Professora Lorete Maria da Silva Kotze, Professora Adjunta da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento pelo incentivo constante e pela tenacidade com que buscou viabilizar os estudos de anatomia patológica deste trabalho. Estendo este agradecimento à Professora Franczy Reis da Silva Patrício, do Serviço de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina, que preparou o material intestinal para os estudos histológicos e ao Professor Marco Aurélio de Quadros Cravo, Professor Adjunto de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Paraná, pelas valiosas sugestões.

Ao Professor Dalton Francisco de Andrade, Professor Adjunto do Curso de Estatística da Universidade de São Paulo meu reconhecimento pela competência e dedicação com que conduziu as análises estatísticas deste trabalho.

Aos colegas Drs. Victor Assad Buffara Júnior, Júlio César Wiederkehr, Clementino Zeni Neto e Fernando Hintz Greca, pelas valiosas sugestões e pelo auxílio na elaboração das ilustrações.

Ao farmacêutico-bioquímico João Carlos Domingues Repka, chefe do Setor de Controle de Qualidade do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), meu agradecimento pelos estudos microbiológicos.

À bibliotecária Aurea Maria Costin e às demais bibliotecárias da Biblioteca do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento pela orientação e auxílio nas pesquisas bibliográficas.

Aos Laboratórios B. Braum S.A., na pessoa do Dr Ronaldo Viana, Diretor Médico, pelo imprescindível auxílio no fornecimento das soluções de nutrição parenteral e das bombas infusoras.

Às farmacêuticas da Farmácia Central do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, meu agradecimento pelo preparo das soluções de nutrição parenteral.

Ao Professor Ubiratan de Mattos meu agradecimento pela revisão do vernáculo e pelas sugestões após a leitura dos originais.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	vii
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1. Objetivo.....	8
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3. MATERIAL E MÉTODO.....	26
3.1. Experimento 1.....	26
3.1.1. técnica operatória.....	27
3.1.2. sacrifício.....	30
3.2. Experimento 2.....	31
3.2.1. técnica operatória.....	31
3.2.2. coleta de dados.....	35
3.2.3. estudo microbiológico.....	36
3.2.4. estudo histológico.....	37
3.2.5. análise estatística.....	37
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Experimento 1.....	40
4.1.1. peso corporal.....	40
4.1.2. composição intestinal.....	40
4.2. Experimento 2.....	42
4.2.1. peso corporal.....	42
4.2.2. dados de ingestão e excreção.....	43
4.2.3. peso dos órgãos.....	46
4.2.4. exames laboratoriais.....	49
4.2.5. cultura de intestino delgado.....	50
4.2.6. cultura dos órgãos.....	51
4.2.7. estudo histopatológico.....	53
5. DISCUSSÃO.....	64
6. CONCLUSÕES.....	82
7. ANEXOS.....	85
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

LISTA DE TABELAS

1.	Composição da ração e da solução de nutrição parenteral utilizadas no experimento 1.....	29
2.	Composição da ração e da solução de nutrição parenteral utilizadas no experimento 2.....	32
3.	Peso corporal inicial e final dos ratos do experimento 1.....	40
4.	Variação do peso corporal dos ratos do experimento 1.....	41
5.	Conteúdo de proteína total, DNA e RNA na mucosa intestinal dos ratos do experimento 1.....	41
6.	Peso corporal inicial e final dos ratos do experimento 2.....	42
7.	Variação do peso corporal dos ratos do experimento 2.....	43
8.	Peso dos órgãos dos ratos do experimento 2.....	49
9.	Exames laboratoriais dos ratos do experimento 2.....	50
10.	Cultura do intestino delgado dos ratos do experimento 2.....	51
11.	Cultura do intestino delgado expressa para cada subgrupo de ratos do experimento 2.....	51
12.	Cultura de órgãos nos ratos do experimento 2.....	52
13.	Cultura de órgãos dos ratos com ou sem oclusão intestinal do experimento 2.....	52
14.	Cultura de órgãos expressas para cada subgrupo de ratos do experimento 2.....	53
A1.	Ingestão de calorías dos ratos do experimento 2.....	85
A2.	Ingestão de água dos ratos do experimento 2.....	85
A3.	Excreção de fezes dos ratos do experimento 2.....	86
A4.	Volume urinário dos ratos do experimento 2.....	86

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1.	Ingestão de calorias dos ratos do experimento 2.....	44
2.	Ingestão de água dos ratos do experimento 2.....	45
3.	Excreção de fezes dos ratos do experimento 2.....	47
4.	Volume urinário dos ratos do experimento 2.....	48
5.	Fígado de rato do grupo-controle.....	54
6.	Fígado de rato do grupo parenteral.....	55
7.	Jejuno de rato do grupo-controle.....	57
8.	Jejuno de rato do grupo parenteral.....	58
9.	Baço de rato do grupo-controle.....	60
10.	Baço de rato do grupo parenteral.....	60
11.	Linfonodo mesentérico de rato do grupo-controle.....	61
12.	Linfonodo mesentérico de rato do grupo parenteral.....	61

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi investigar a ocorrência de translocação bacteriana em ratos recebendo nutrição parenteral. Este estudo consistiu de dois experimentos: no primeiro foram investigadas as alterações morfológicas e bioquímicas que ocorrem no intestino delgado de ratos mantidos em nutrição parenteral por 7 dias. No segundo, foi avaliada a incidência de translocação bacteriana em ratos em nutrição parenteral através de cultura de fígado, baço e linfonodo mesentérico. Subgrupos de ratos do experimento 2 foram submetidos a oclusão intestinal com o objetivo de promover uma agressão ao intestino desfuncionalizado pela nutrição parenteral. No experimento 1 foram utilizados 16 ratos. Todos os ratos tiveram cateteres implantados na veia jugular, exteriorizados na região cervical dorsal e conectados a bomba infusora. O grupo-controle recebeu infusão de solução salina e ração para ratos e água *ad libitum*. O grupo parenteral recebeu solução de nutrição parenteral que forneceu aproximadamente 200 kcal/kg/dia e água *ad libitum*. Os ratos do grupo parenteral apresentaram redução significativa do peso e do conteúdo de RNA da mucosa jejunal em relação aos controles. O conteúdo de proteína total e de DNA da mucosa intestinal não variou de maneira significativa. No experimento 2 foram utilizados 32 ratos. O grupo controle foi submetido a dissecação e ligadura da veia jugular e teve livre acesso a ração para ratos e água. O grupo parenteral recebeu nutrição parenteral fornecendo aproximadamente 200 kcal/kg/dia através de cateter colocado na veia jugular e teve acesso a água *ad libitum*. Após 7 dias, metade dos ratos de cada grupo foi submetida a ligadura do íleo terminal. Todos os ratos foram sacrificados após 12 horas. Houve aumento do peso corporal de todos os ratos. A ingestão calórica foi semelhante em ambos os grupos. Os ratos do grupo parenteral apresentaram menor ingestão de água, maior volume urinário e menor excreção fecal do que os ratos-controle. Houve aumento significativo do peso do fígado, baço e linfonodo mesentérico e redução do peso do intestino dos ratos do grupo parenteral em relação aos ratos-controle. Os ratos do grupo parenteral apresentaram redução significativa da glicemia e da concentração de hemoglobina e aumento da contagem plasmática de leucócitos e linfócitos. Os níveis séricos de albumina foram semelhantes em ambos os grupos. Histologicamente os ratos do grupo parenteral apresentaram alterações atróficas do jejuno, vacuolização periportal do fígado, hiperplasia da camada do manto do baço e hiperplasia difusa e da zona perifolicular dos linfonodos mesentéricos. As contagens bacterianas do jejuno não se modificaram de maneira significativa pela nutrição parenteral ou pela oclusão intestinal. Nenhum rato do grupo controle com ou sem oclusão intestinal apresentou cultura positiva do baço, fígado ou linfonodo mesentérico. Três ratos do grupo parenteral apresentaram cultura positiva do baço, um no subgrupo sem e dois no subgrupo com oclusão intestinal. Conclui-se que ocorrem alterações atróficas no intestino de ratos recebendo nutrição

parenteral por 7 dias. Esses resultados também demonstram que não ocorre translocação bacteriana em ratos espontaneamente ou após oclusão intestinal de 12 horas. Entretanto, esta pode ocorrer em ratos mantidos em nutrição parenteral por sete dias.

SUMMARY

The aim of the present study was to investigate the occurrence of bacterial translocation in rats receiving parenteral nutrition. The study consisted of two experiments: in the first, the morphological and biochemical changes that occur in the small bowel of rats receiving parenteral nutrition for 7 days were determined. In the second, the incidence of bacterial translocation was determined by culturing the liver, spleen and mesenteric lymph nodes of rats receiving parenteral nutrition for 7 days. Subgroups of rats of the second experiment were subjected to intestinal occlusion to promote an aggression to the unused bowel due to parenteral nutrition. Sixteen rats were used in the first experiment. All rats had a catheter placed in the jugular vein, exteriorized at the nape of the neck and connected to an infusion pump. Controls rats received continuous infusion of normal saline and had free access to rat chow and water. Study rats received parenteral nutrition solution yielding approximately 200 kcal/kg/day and water *ad libitum*. All rats were killed after 7 days. All rats gained weight. Study rats had a significant reduction of the intestinal mucosal weight and in its RNA content. Mucosal total protein and DNA content remained unchanged. Thirty-two rats were used in the second experiment. Control rats had their jugular vein dissected out and ligated. Study rats had a catheter placed in the jugular vein and received parenteral nutrition solution yielding approximately 200 kcal/kg/day and water *ad libitum*. After 7 days, one half of the rats of each group was subjected to occlusion of the distal ileum. All rats were killed 12 hours later. All rats gained weight. Caloric intake was similar in both groups. Parenteral nutrition rats had a lower water intake, greater urine output and lower fecal excretion as compared to controls. Rats on parenteral nutrition had a significant increase in the weight of the liver, spleen and mesenteric lymph nodes and a reduction in the small bowel weight as compared to controls. Blood glucose levels and hemoglobin concentration of parenteral feeding rats decreased, while plasma leucocyte and lymphocyte counts increased in parenteral nutrition rats comparing to controls. Serum albumin concentrations were similar in both groups. Histological studies demonstrated atrophic changes in the jejunum, periportal vacuolization in the liver, hyperplasia of the marginal layer of the spleen follicles and diffuse and perifollicular hyperplasia of the mesenteric lymph nodes of the rats receiving parenteral nutrition. Jejunal bacterial counts did not change significantly in rats receiving parenteral nutrition with or without intestinal occlusion. No rat of the control group had positive culture of the liver, spleen or mesenteric lymph nodes. In contrast, 3 rats receiving parenteral nutrition had positive spleen cultures, one in the subgroup without intestinal occlusion and two in the subgroup with intestinal occlusion. It is concluded from this

study that atrophic changes occur in the intestine of rats receiving parenteral nutrition for 7 days. These results also show that bacterial translocation do not occur in rats spontaneously or after a 12 hour intestinal occlusion period. However, bacterial translocation may occur in rats receiving parenteral nutrition for 7 days.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento das modernas unidades de terapia intensiva, os pacientes graves são cada vez mais monitorizados com métodos invasivos, como cateteres para medir a pressão venosa central, pressão arterial média, sondas endotraqueais ou urinárias de demora, além do uso prolongado de acessos venosos múltiplos, antibióticos de largo espectro, hemodiálise e nutrição parenteral total. Estes procedimentos invasivos tornam os pacientes mais propensos ao desenvolvimento de infecções hospitalares e levaram à criação de protocolos rígidos de antisepsia para a manipulação de sondas, cânulas e cateteres. Entretanto, observou-se que, apesar dos cuidados rigorosos de assepsia da equipe médica, freqüentemente tais pacientes desenvolvem infecções sistêmicas graves, em geral por microorganismos gram-negativos, os quais normalmente não são encontrados nas sondas e cateteres implantados, onde são mais freqüentes os germes gram-positivos ^{11, 61}. Observação similar foi descrita em pacientes queimados, os quais, apesar dos cuidados rigorosos de controle de infecção nas áreas queimadas, freqüentemente desenvolvem infecção secundária por microorganismos típicos da flora intestinal endógena ⁴. Com base nestas observações, surgiu recentemente na literatura médica o conceito de translocação bacteriana, definido como a passagem de bactérias viáveis através da parede intestinal para os ductos linfáticos abdominais e a circulação sistêmica ⁹. Desta forma, estariam explicados os quadros sépticos por germes

gram-negativos que ocorrem em pacientes graves sem que se possa identificar a porta de entrada da infecção. Recentemente foi proposto estender-se o conceito de translocação bacteriana para incluir a passagem de bactérias não viáveis e de enterotoxinas através da parede intestinal ².

O primeiro relato de translocação bacteriana data da década de 50, quando era popular o método de ligadura da artéria hepática para o tratamento da hipertensão portal ⁸⁰. Após este procedimento eram freqüentes as descrições de necrose hepática com infecção bacteriana associada. Esses achados levaram SCHATTEN et al a realizarem estudos microbiológicos do sangue portal durante diversos procedimentos cirúrgicos abdominais, para avaliar se as bactérias que contaminavam o fígado poderiam originar-se da flora intestinal, através da veia porta ⁸⁰. Naquele estudo pioneiro, os autores relataram 32% de culturas de sangue obtido da veia porta positivas, com cultura simultânea de sangue periférico negativa. Esses resultados levaram os autores a postularem que ocorreria escape contínuo de bactérias da luz intestinal para o sangue portal, com contaminação secundária do fígado.

O mecanismo pelo qual as bactérias presentes na luz intestinal chegam viáveis aos linfonodos mesentéricos e à circulação sistêmica ainda não é bem conhecido. A ocorrência de translocação bacteriana tem sido demonstrada principalmente no intestino delgado, a despeito de a maior população bacteriana encontrar-se no cólon ⁹⁷. Apesar de já ter sido demonstrada a

presença de bactérias nos espaços intercelulares, penetrando através dos complexos juncionais do epitélio intestinal ⁹³, alguns autores acreditam que as placas de Peyer poderiam ser o local de passagem das bactérias ⁵⁶. Para WELLS et al, as bactérias translocadas são transportadas por macrófagos, que as fagocitam na submucosa e as transportam até os linfonodos mesentéricos ⁹⁷. De acordo com esta teoria, as bactéria chegariam viáveis até os linfonodos mesentéricos por falha do macrófago em digerir a bactéria fagocitada.

Recentemente, ALEXANDER et al estudaram o mecanismo de translocação bacteriana, empregando a instilação de *Candida albicans*, *E.coli* ou endotoxina em alça exteriorizada do tipo Thiry-Vella em ratos e cobaias ². A translocação de *Candida albicans* e de *E.coli* ocorreu diretamente através do enterócito e não entre as células. Os microorganismos translocados eram fagocitados por macrófagos na lâmina própria, apesar de terem sido observados microorganismos viáveis nos ductos linfáticos e vasos sanguíneos. A endotoxina também ultrapassou a barreira epitelial através dos enterócitos, mas sofreu difusão na lâmina própria e foi observada passagem das enterotoxinas entre os miócitos e não através deles, na camada muscular.

Raramente, as bactérias podem migrar para focos inflamatórios intra-abdominais, ao invés de atingirem a circulação sistêmica. Já em 1950, SCHWEINBERG et al demonstraram a ocorrência de migração transmural de *E. coli* marcada para a cavidade peritoneal ⁸¹. Também já foi relatada

a contaminação de próteses vasculares e outros corpos estranhos, na cavidade abdominal, por bactérias endógenas da flora intestinal ^{36,73}, porém o mecanismo pelo qual ocorre a migração transmural não é conhecido.

Existe um complexo sistema imunológico e não imunológico de defesa do intestino que deve estar operante para impedir que bactérias presentes na luz intestinal atinjam a circulação sangüínea e os ductos linfáticos, e que recebeu o nome genérico de barreira intestinal ⁹⁷. A quebra desta barreira resulta em translocação bacteriana. A manutenção dos mecanismos de defesa da barreira intestinal depende do trofismo do intestino, e a estrutura e função intestinais são muito sensíveis a variações da qualidade e quantidade do alimento ingerido ^{65,92}. Apesar de a desnutrição afetar a estrutura intestinal e estar associada genericamente a aumento da susceptibilidade a infecção, diversos estudos experimentais não conseguiram demonstrar aumento da incidência de translocação bacteriana em animais desnutridos ^{23,28,29,97}. No entanto, quando ratos desnutridos são expostos a fatores agressores, tais como injeção de endotoxina ou peritonite induzida por *E. coli*, a incidência de translocação bacteriana é maior do que nos ratos bem nutridos submetidos às mesmas agressões ^{28,53}.

Entretanto, nos estudos com ratos desnutridos citados anteriormente, é impossível separar os efeitos causados pela desnutrição em si daqueles dependentes da falta de alimentos na luz intestinal. É possível supor que a falta de estímulo físico

e químico dos nutrientes na luz intestinal possa ser a principal responsável pelas alterações atróficas que ocorrem no intestino desfuncionalizado, independentemente da desnutrição. A confirmação desta hipótese foi possível com o advento da nutrição parenteral, pois a infusão endovenosa de nutrientes permite manter o estado nutricional sem a presença de nutrientes na luz intestinal.

Como o trofismo intestinal é importante na manutenção dos mecanismos de defesa da barreira intestinal, e como a nutrição parenteral induz a alterações atróficas no intestino ^{47,50,58}, é pertinente que se questione se a nutrição parenteral poderia predispor à translocação bacteriana. Foram identificados na literatura médica apenas dois trabalhos que investigaram a influência da nutrição parenteral sobre a ocorrência de translocação bacteriana, e seus resultados foram controversos.

IRIYAMA et al avaliaram a endotoxemia portal após clampeamento temporário da veia mesentérica superior em ratos recebendo nutrição parenteral ⁴⁸. A fonte calórica da nutrição parenteral foi glicose ou combinação de glicose e lipídios. As endotoxemias arterial e do sangue portal foram maiores nos ratos-controle, alimentados por via oral, do que naqueles em nutrição parenteral, independentemente da fonte calórica utilizada. Infelizmente, não foram realizados concomitantemente estudos microbiológicos. Entretanto, a redução da endotoxemia portal em ratos mantidos em nutrição parenteral sugere que esta tenha diminuído a ocorrência de translocação bacteriana ou, ao

menos, a translocação de toxinas bacterianas, em relação ao grupo alimentado por via oral, pois recentemente foi demonstrada a estreita associação existente entre translocação de bactérias e de endotoxinas no rato ³.

Por outro lado, ALVERDY et al demonstraram que ratos em nutrição parenteral são mais susceptíveis à translocação bacteriana ⁶. Estes autores compararam três grupos de ratos, que receberam ração, nutrição parenteral ou a mesma solução parenteral administrada por via oral por quatorze dias. Os autores não demonstraram translocação bacteriana no grupo alimentado com ração, porém esta ocorreu em 33,3% dos ratos nutridos por via enteral e em 66,6% dos ratos do grupo parenteral.

1.1. Objetivo

A relação existente entre nutrição parenteral e translocação bacteriana é controversa ^{6, 48}. O presente estudo foi realizado com o objetivo de investigar se a nutrição parenteral promove translocação bacteriana em ratos. Foi estudado inicialmente se o modelo empregado de nutrição parenteral, em ratos, por sete dias, é capaz de manter o estado nutricional dos animais e de induzir alterações morfológicas e da composição protéica do intestino delgado, quando comparado com ratos alimentados por via oral. Posteriormente, subgrupos de ratos em nutrição parenteral foram submetidos a oclusão intestinal como fator de agressão e de promoção de translocação bacteriana, para avaliar se o intestino atrófico resultante da nutrição parenteral estaria mais susceptível à ocorrência de translocação bacteriana.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

Na revisão da literatura, a seguir, são abordados três aspectos relevantes para o estudo da translocação bacteriana em ratos recebendo nutrição parenteral: as alterações que ocorrem no intestino de ratos mantidos em nutrição parenteral, os mecanismos de defesa da barreira intestinal e, finalmente, alguns modelos experimentais que investigaram a ocorrência de translocação bacteriana em ratos e camundongos.

As alterações estruturais, hormonais, enzimáticas e morfológicas que ocorrem no trato gastrintestinal de ratos em nutrição parenteral foram objeto de alguns estudos nas últimas duas décadas. LEVINE et al demonstraram, em ratos nutridos exclusivamente por via endovenosa, por sete dias, redução do peso do intestino e da mucosa intestinal, além de redução do conteúdo protéico e de DNA da mucosa, em relação aos ratos-controle, os quais recebiam a mesma solução por via oral ⁵⁸. Estes mesmos autores também observaram redução significativa da maltase, sucrase e lactase intestinal nos ratos em nutrição parenteral.

JOHNSON et al mantiveram ratos por períodos de até três semanas em nutrição parenteral e compararam os achados morfológicos e bioquímicos com os de ratos que eram alimentados com ração por via oral ⁵⁰. Houve redução significativa do peso do intestino dos ratos em nutrição parenteral, além de redução do DNA e da proteína total do intestino delgado. Entretanto, o ganho de peso foi menor no grupo que recebeu nutrição

parenteral em relação ao grupo alimentado por via oral.

HUGHES e DOWLING estudaram ratos em nutrição parenteral exclusiva por períodos de três a quinze dias e compararam os resultados com os de grupos de ratos recebendo solução salina por via endovenosa e ração por via oral ⁴⁷. Estes autores demonstraram redução do peso da mucosa jejunal e do conteúdo de DNA já a partir do terceiro dia de nutrição parenteral. A capacidade de absorção de galactose estava reduzida nos ratos mantidos em nutrição parenteral, bem como a atividade da fosfatase alcalina e da catalase.

O intestino executa normalmente várias funções, dentre as quais se incluem processos complexos de digestão, absorção seletiva e secreção. Entretanto, apresenta em seu interior bactérias e seus metabólitos e toxinas, os quais devem ser bloqueados ao mesmo tempo que substâncias nutritivas são absorvidas. Para executar esta tarefa, o intestino dispõe de métodos imunológicos e não imunológicos complexos, que permitem prevenir o escape de bactérias ou de toxinas bacterianas do conteúdo luminal para os linfonodos mesentéricos e o sangue portal. Estes mecanismos são conhecidos genericamente como barreira intestinal ⁹⁷.

O componente não imunológico da barreira intestinal é representado pelas secreções salivares, acidez gástrica, sais biliares, peristaltismo intestinal, flora intestinal normal e a barreira mecânica formada pelo muco e pelas células epiteliais ⁵⁵. A saliva possui a lactoferrina, que priva as

bactérias de ferro, e a muramidase, uma lisosima que destrói a parede celular de certas bactérias ⁴⁰. A acidez gástrica e os sais biliares criam um meio desfavorável ao crescimento bacteriano ^{83,99}. Para que as bactérias possam colonizar o intestino e translocar através do epitélio intestinal, é necessário que ocorra, inicialmente, aderência da bactéria ao epitélio ⁸². Portanto, fatores que dificultem a aderência das bactérias ao epitélio gastrintestinal vão limitar a invasão bacteriana. Os fatores que mais contribuem para impedir a aderência bacteriana são o peristaltismo intestinal, por prevenir estagnação do conteúdo luminal, e a presença da camada de muco. O muco, além de funcionar como barreira mecânica para a difusão de potenciais patógenos, pode ligar-se a certas bactérias, impedindo sua aderência aos receptores das células epiteliais ⁹⁵. Foi demonstrado que a remoção do muco intestinal resulta em superpopulação bacteriana e aumento da incidência de translocação bacteriana ⁹⁷.

A flora bacteriana normalmente presente na luz intestinal é fundamental para a manutenção da microecologia intestinal e para prevenir o crescimento de bactérias patogênicas ⁹. Apesar de a população de bactérias anaeróbicas ser maior do que a de aeróbicas, raramente se observa translocação de anaeróbios ^{88,96}. No entanto, aceita-se que os anaeróbios são importantes para manter a estabilidade da flora bacteriana intestinal e, desta forma, prevenir o crescimento excessivo de cepas bacterianas resistentes ⁹⁷. A flora bacteriana normalmente

presente na luz intestinal também secreta ácidos graxos de cadeia curta, os quais inibem a aderência de bactérias patogênicas à superfície epitelial ⁵¹.

O componente imunológico da barreira intestinal é representado, basicamente, pelo tecido linfóide associado ao intestino. Este é constituído pelas células linfóides dispersas ao longo do trato gastrintestinal e pelo tecido linfóide agrupado na forma de placas de Peyer ou linfonodos, em geral formados por linfócitos B e linfócitos T supressores ¹². Estima-se que 25% da mucosa intestinal seja composta por tecido linfóide, e que 70 a 80% das células secretoras de imunoglobulinas encontram-se no intestino delgado ¹². A população linfóide difusa é composta por células T auxiliaadoras, linfócitos B, plasmócitos e mastócitos, e estão presentes na lâmina própria ou como linfócitos intra-epiteliais. Uma segunda linha de defesa imunológica corresponde aos linfonodos mesentéricos e às células de Kupffer hepáticas.

Os antígenos presentes na luz intestinal estimulam os linfócitos presentes nas placas de Peyer e na lâmina própria a produzirem imunoglobulinas, principalmente IgA, mas também IgM, IgG, IgD e IgE ⁵⁵. Dentre estas várias classes de imunoglobulinas, a IgA secretória (IgA-S) é a principal responsável pela mediação das respostas dos anticorpos intestinais ⁴². A IgA-S difere da IgA sérica por conter a cadeia J e o componente secretório. Esta conformação molecular com ligações covalentes é que permite à IgA-S resistir à ação

das enzimas proteolíticas presentes na luz intestinal ¹⁴.

A principal ação da IgA-S é ligar-se aos patógenos intraluminares e, conseqüentemente, impedi-los de aderirem-se ao epitélio e penetrar na célula epitelial ³⁷. A IgA-S também se liga às proteínas não digeridas e pode auxiliar na inibição da divisão celular de certas bactérias, na prevenção da colonização viral e na estimulação da produção de muco pelas células caliciformes ^{30,43}. Outras imunoglobulinas produzidas nas placas de Peyer e na lâmina própria são a IgM, IgG e IgE, porém estas são degradadas na luz intestinal pelas enzimas proteolíticas ¹³.

São revistos, a seguir, alguns trabalhos que investigaram a ocorrência de translocação bacteriana em ratos e camundongos em diversas condições experimentais.

MAEJIMA et al estudaram a influência de queimadura de 15 a 30% da superfície corporal sobre a ocorrência de translocação bacteriana ⁶². Para tanto, foram utilizados camundongos tratados previamente com estreptomicina e bacitracina para eliminar totalmente a flora endógena. Os camundongos foram acondicionados em gaiolas metabólicas esterilizadas e mantidos em condições de antissepsia. Após o período de aclimatização, os animais foram inoculados, por via oral, com suspensão contendo *E.coli* resistente aos antibióticos utilizados. Quatro dias após a colonização com *E.coli* os camundongos foram submetidos a queimadura de 15 a 30% da superfície corporal. Os autores reportaram níveis elevados de *E.coli* no ceco dos

camundongos, na ordem de 10^9 a 10^{10} unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de tecido. Nos animais-controle, sem queimadura, ocorreu translocação bacteriana em 77% dos casos para os linfonodos mesentéricos, 49% para o fígado e 3% para o baço. O sangue e a cavidade peritoneal estavam estéreis. Nos camundongos com queimadura de 15% da superfície corporal ocorreu translocação bacteriana em 90% dos animais para os linfonodos mesentéricos, 60% para o fígado e 10% para o baço. Com queimadura de 30% da superfície corporal a incidência de translocação bacteriana foi de 100%, 93% e 67%, respectivamente. Em 33% dos animais a hemocultura foi positiva e 40% deles apresentaram cultura positiva da cavidade peritoneal. O aumento da susceptibilidade à translocação bacteriana pela queimadura foi atribuída, pelos autores, à imunossupressão conseqüente ao estresse metabólico decorrente do trauma térmico. Entretanto, o tratamento com antibiótico e a população anormalmente elevada de uma única cepa bacteriana criaram distúrbios acentuados da microflora dos camundongos e certamente contribuíram para a alta incidência de translocação bacteriana relatada por estes investigadores. A incidência elevada de translocação bacteriana no grupo-controle comprova esta afirmativa.

Com o objetivo de investigar a influência do uso de antibióticos por via oral na ocorrência de translocação bacteriana, DEITCH et al submeteram ratos à esterilização da flora bacteriana com estreptomicina e bacitracina e os

mantiveram em condições de antissepsia como descrito anteriormente ²⁶. Após a adaptação às condições experimentais, os ratos receberam suspensão por via oral que continha 10^8 UFC de *E.coli* resistente aos antibióticos utilizados. A contagem de *E.coli* no ceco atingiu níveis de 10^8 UFC por grama de tecido. Em contraste com o estudo anterior, não ocorreu translocação bacteriana em nenhum rato do grupo-controle ou nos ratos com até 20% de queimadura da superfície corporal. Todos os ratos que foram submetidos a queimadura de 40% da superfície corporal apresentaram translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos. Num segundo experimento, os ratos receberam penicilina por via oral, em dose baixa (500 UI/ml), ou alta (1500 UI/ml), dissolvida na água. Com dose baixa de penicilina houve aumento da incidência de translocação bacteriana, enquanto com dose alta não houve translocação. Os autores atribuem o aumento da incidência de translocação bacteriana nos ratos submetidos a queimadura de 40% da superfície corporal a alterações que ocorreriam na função da célula epitelial e na produção do muco intestinal, interferência com a imunidade ou alteração da flora endógena, apesar de não oferecerem explicação para os mecanismos envolvidos. A razão pela qual doses baixas de penicilina aumentaram a incidência de translocação bacteriana teria sido a seleção bacteriana ocorrida por supressão incompleta do crescimento bacteriano, permitindo com que houvesse superpopulação de certas bactérias, como a *E. coli*. Já com doses altas de penicilina, houve

supressão completa do crescimento de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, e nestes ratos não ocorreu translocação. Culturas simultâneas da área das queimaduras demonstraram que as bactérias presentes nos linfonodos mesentéricos não eram as mesmas presentes nas queimaduras, mas correspondiam às mesmas bactérias identificadas no intestino delgado.

MADDAUS et al avaliaram o papel da imunidade celular na prevenção da translocação bacteriana em camundongos ⁶¹. Os animais foram tratados com diversos agentes imunossupressores: prednisona, irradiação corporal, ciclosporina A, anticorpo monoclonal anti L3T4, que é específico para linfócitos T auxiliares de camundongo, e globulina antitimocítica. A translocação bacteriana foi avaliada através de cultura de linfonodos mesentéricos. Nos grupos-controle a ocorrência de translocação variou de 0 a 5%. Com o tratamento com prednisona e com irradiação corporal, a incidência de translocação foi de 60 a 80%. No entanto, não houve aumento significativo da translocação nos camundongos que receberam as drogas que deprimem a imunidade mediada por linfócitos T em relação aos controles. Estes achados sugerem que a imunidade mediada por linfócitos T tem pouca importância na prevenção da translocação bacteriana em camundongos.

Com o objetivo de avaliar se endotoxina poderia promover translocação bacteriana, DEITCH et al estudaram camundongos de diversas origens genéticas ²⁴. Os animais receberam injeções de endotoxina (lipolissacáride de *E. coli* 026:B6) por via intra-

peritoneal, intramuscular ou subcutânea. A maior incidência de translocação bacteriana (88%) ocorreu nos camundongos que receberam altas doses de endotoxina intraperitoneal. Endotoxina por via subcutânea não aumentou a incidência de translocação. Os autores atribuem os resultados ao possível aumento da permeabilidade intestinal ocasionado pela endotoxina. Estes resultados são importantes na medida em que endotoxemia é comum em pacientes imunodeprimidos ou politraumatizados e poderia promover a ocorrência de translocação bacteriana nestas condições.

Em outro estudo, DEITCH e BERG avaliaram a influência da desnutrição e da endotoxemia sobre a ocorrência de translocação bacteriana em camundongos ²³. A desnutrição foi induzida por dieta contendo apenas 0,03% de proteína por 6 dias. A endotoxina utilizada foi lipopolissacáride de *E. coli* 026:B6, injetada por via intraperitoneal. Os camundongos desnutridos apresentaram aumento significativo da contagem de bactérias no ceco. Entretanto, não houve translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos destes camundongos, mesmo com alteração da flora intestinal. Os camundongos não desnutridos receberam endotoxina e subgrupos de camundongos foram submetidos a queimaduras de 30% da superfície corporal. Neste estudo, o trauma térmico não resultou na ocorrência de translocação bacteriana. Entretanto, a injeção de endotoxina acompanhou-se de translocação bacteriana, e esta foi ainda mais freqüente nos animais submetidos a queimaduras e injeção de endotoxina.

Em estudo subsequente, DEITCH et al avaliaram com mais detalhes os efeitos da desnutrição sobre a flora entérica e a ocorrência de translocação bacteriana em camundongos ²⁹. A desnutrição foi induzida de duas maneiras: jejum de 72 horas ou dieta hipoprotéica (0,03% de proteína) por até 14 dias. O jejum de 3 dias resultou em perda de 22% do peso corporal inicial. Apesar do aumento da flora cecal no terceiro dia do experimento, não ocorreu translocação bacteriana nos ratos desnutridos. No grupo com dieta hipoprotéica a perda de peso foi de 27% no décimo-quarto dia de dieta e, apesar do aumento de 20 vezes na contagem de bactérias aeróbicas gram-negativas, também não houve translocação bacteriana. Num segundo experimento, a flora intestinal dos camundongos foi esterilizada, após induzida a desnutrição, com bacitracina e estreptomicina, e os animais foram infectados com suspensão oral contendo *E.coli* resistente a estes antibióticos. Apesar da desnutrição protéico-calórica, os camundongos não apresentaram translocação bacteriana. A explicação oferecida pelos autores para este achado é que a colonização do trato gastrintestinal com *E. coli* foi menor nos camundongos desnutridos do que naqueles bem nutridos. Em um terceiro experimento, os autores combinaram desnutrição e infecção com *E. coli* a queimaduras de 30% da superfície corporal. Nos camundongos desnutridos e infectados com *E. coli* o trauma térmico não resultou em translocação bacteriana. Portanto, desnutrição e trauma térmico não atuam sinergisticamente para promover translocação

bacteriana em camundongos, provavelmente porque a desnutrição diminui a flora bacteriana no ceco.

Em estudo similar, DEITCH et al avaliaram se a injeção intraperitoneal de endotoxina, como citada nos estudos prévios, poderia aumentar a incidência de translocação bacteriana em camundongos desnutridos ²³. Neste estudo, à semelhança dos estudos dos mesmos autores citados anteriormente, a desnutrição não complicada não aumentou a incidência de translocação bacteriana em camundongos. Entretanto, com a injeção intraperitoneal de endotoxina, a incidência de translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos foi maior no grupo de camundongos desnutridos do que naqueles bem nutridos. A mortalidade também foi maior nos animais desnutridos em relação aos controles. A explicação oferecida pelos autores, para o aparente sinergismo da desnutrição e a administração de endotoxina, seria o aumento da permeabilidade intestinal causada pela endotoxina, combinada ao efeito imunossupressor sistêmico da desnutrição.

SORI et al avaliaram, em ratos, se a hipotensão ou o choque poderia induzir translocação de bactérias da luz intestinal para a corrente sanguínea ⁸⁷. Os ratos receberam, por via oral, suspensão contendo *E. coli* marcada com carbono-14. Vinte e quatro horas após, a artéria femoral foi cateterizada. Na manhã seguinte, induziu-se choque hemorrágico por aspiração de sangue pelo catéter arterial, de forma a manter a pressão arterial média em 30 mmHg por períodos de até

7 horas. O sangue foi então reinfundido até normalizar a pressão arterial. A radioatividade do plasma ao carbono-14 foi medida 2, 24 e 48 horas após o choque. No grupo-controle (artéria cateterizada mas sem indução do choque) a radioatividade plasmática não se modificou. Entre os 14 ratos que foram submetidos ao choque hemorrágico, 7 apresentaram aumento da radioatividade do carbono-14 no plasma. A mortalidade destes ratos foi de 100%, e em todos a hemocultura foi positiva para *E. coli*. Os outros 7 ratos não tiveram atividade aumentada do carbono-14, e a mortalidade neste grupo foi de 17%. Este estudo demonstra que o choque hemorrágico pode promover translocação bacteriana em ratos e sugere que o intestino pode ser importante fonte de infecção em indivíduos que apresentam choque prolongado.

Para avaliar a influência do estresse e do trauma sobre a incidência de translocação bacteriana, DEITCH et al estudaram a translocação bacteriana em 3 modelos experimentais: estresse induzido pelo frio (16 horas a 4°C), trauma (fratura-amputação femoral) e trauma térmico (queimadura de 30% da superfície corporal) ²⁸. A exposição ao frio não resultou em translocação bacteriana, e esta ocorreu em 11% dos ratos submetidos a fratura-amputação femoral. A incidência de translocação foi significativamente maior nos ratos submetidos a queimadura de 30% da superfície corporal. Os autores concluem que estresse, na ausência de outros fatores potencializadores, não é suficiente para causar translocação bacteriana em camundongos,

mas que esta ocorre após o trauma, especialmente após queimaduras.

Com o objetivo de avaliar a cinética da distribuição das bactérias e das endotoxinas translocadas da luz intestinal, ALEXANDER et al utilizaram camundongos submetidos a queimadura de 30% da superfície corporal ³. Um dia antes da queimadura os ratos receberam, por gavagem, suspensão contendo *E. coli* ou endotoxina marcadas com carbono-14. Foram obtidas amostras do sangue e de órgãos internos 1, 4 e 24 horas após o trauma térmico, para avaliação da radioatividade plasmática e para estudos microbiológicos. Não ocorreu translocação bacteriana nos animais não queimados, apesar da alta dose (10^{10} UFC) de *E. coli* administrada. Nos camundongos que sofreram queimadura, a translocação de *E. coli* e de endotoxina foi mais intensa na primeira hora após o trauma. A radioatividade concentrou-se mais nos linfonodos mesentéricos, seguida do baço, pulmão e fígado. A distribuição da endotoxina translocada foi semelhante à das bactérias. Os linfonodos e o baço foram muito eficientes em destruir as bactérias translocadas, com morte de 95 a 99% dos microorganismos. Os pulmões foram os menos eficientes, com cerca de 35% de bactérias translocadas viáveis no pulmão após o trauma. A pouca eficiência da destruição das bactérias pelo pulmão é possivelmente co-responsável pela alta incidência de pneumonias em indivíduos queimados.

REDAN et al avaliaram se a manipulação e a isquemia intestinal poderiam promover translocação bacteriana em

ratos⁷⁶. Grupos de ratos foram submetidos a ligadura da artéria mesentérica superior ou apenas a manipulação do intestino e receberam, por via oral, suspensão contendo *E. coli* viáveis ou não, marcadas com carbono-14. Os investigadores observaram que a simples manipulação do intestino leva a translocação bacteriana a níveis semelhantes aos observados com a ligadura da artéria mesentérica superior. Foi também observado que o índice de translocação de bactérias não viáveis foi inferior ao observado com bactérias viáveis. A translocação das bactérias não viáveis foi semelhante à descrita com algumas substâncias inertes, como a lactulose ou a manose^{71,102}. As bactérias viáveis, por outro lado, participaram ativamente do processo através de invasão das membranas e exibiram índices superiores de translocação. A distribuição das bactérias viáveis neste experimento ocorreu predominantemente para o pulmão, enquanto as bactérias não viáveis foram encontradas principalmente no fígado e nos rins.

Como a presença da bile no intestino é importante como fonte de IgA-S e para manter a microflora normal, DEITCH et al avaliaram se a icterícia obstrutiva poderia promover translocação bacteriana²⁷. Grupos de camundongos foram submetidos a ligadura do colédoco ou a laparotomia e foram observados por uma semana. Os níveis de bilirrubinas do grupo com ligadura do colédoco foram estatisticamente superiores aos controles. A incidência de translocação bacteriana no grupo com icterícia obstrutiva foi de 33%, enquanto no grupo controle foi

de 7%. Os autores também relataram aumento da população bacteriana no ceco dos animais com ligadura do colédoco. Histologicamente, o grupo de camundongos com icterícia obstrutiva apresentou edema subepitelial envolvendo as vilosidades do íleo. O aumento da translocação bacteriana observada nos camundongos com icterícia obstrutiva foi atribuído à combinação do aumento da população bacteriana e ao comprometimento da mucosa intestinal.

3. MATERIAL E MÉTODO

3. MATERIAL E MÉTODO

Este estudo consistiu em dois experimentos. No primeiro foram avaliadas as alterações morfológicas e bioquímicas do intestino delgado de ratos em nutrição parenteral por 7 dias. No segundo foi avaliada a incidência de bactérias viáveis fora da luz intestinal em ratos em nutrição parenteral. Subgrupos de ratos do experimento 2 foram submetidos a oclusão intestinal, com o objetivo de promover uma agressão ao intestino desfuncionalizado e com isso potencializar os efeitos da nutrição parenteral sobre a ocorrência de translocação bacteriana.

3.1. Experimento 1

Dezesseis ratos Fischer machos, com peso inicial de $269 \pm 8,5$ g, provenientes do Laboratório Charles River, Wilmington, Massachussets, EUA, foram utilizados neste experimento. Todas as manipulações experimentais e dosagens bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Metabolismo em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Universidade Estadual de Nova York, Syracuse, EUA. As condições ambientais foram mantidas constantes durante todo o experimento, com ciclo dia/noite de 12 horas (6:00-18:00 horas), temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade do ar de 45%. Os ratos foram aclimatizados a estas condições por período mínimo de 7 dias antes de iniciar-se o experimento. Durante esse período, tiveram livre acesso a água e ração para ratos (Ralston Purina, dieta 5008, Ralston, St Louis, Missouri, EUA). A dieta fornecia

3,5 kcal/g e sua composição encontra-se na tabela 1.

3.1.1.Técnica operatória

Os ratos foram anestesiados com hidrato de cloral a 3%, na dose de 1ml/100g de peso corporal, administrado por via intraperitoneal. A seguir, foram pesados e procedeu-se a tricotomia cervical ventral e dorsal ampla. Os ratos foram fixados em decúbito dorsal e procedeu-se a antisepsia com polivinil-pirrolidona-iodo e colocação de campos de aplicação indireta esterilizados. Foi utilizada incisão cervical oblíqua lateral direita, de aproximadamente 15 mm de extensão. Dissecou-se a face anterior da veia jugular e a seguir foi realizado túnel subcutâneo até a região dorsal, utilizando-se de agulha de punção de subclávia. Um cateter de silicone (Dow Corning, Midland, Michigan, EUA) de diâmetro interno de 0,6 mm e externo de 1,19 mm foi passado por dentro da agulha de punção e exteriorizado para a ferida cervical ventral. O cateter havia sido passado previamente por dentro de espiral e disco metálico (Insteach Laboratories, Plymouth Meeting, Pennsylvania, EUA) e conectado a intermediário tipo "swivel-joint" (Insteach Laboratories, Plymouth Meeting, Pennsylvania, EUA). O conjunto cateter, disco e espiral metálicos e "swivel-joint" havia sido preparado, acondicionado e esterilizado previamente em óxido de etileno. A outra extremidade do cateter foi conectada a equipo de bomba infusora e o conjunto foi preenchido com solução salina isotônica. A seguir, o disco metálico foi fixado à pele, tecido celular subcutâneo e musculatura subjacente da região

cervical dorsal do rato com 4 pontos em "U" de polipropileno 3-0. Com o conjunto disco e espiral fixado ao dorso do rato, foi exposta novamente a ferida cervical ventral. Foi realizada pequena incisão na parede anterior da veia jugular e o cateter foi introduzido cerca de 15 mm, para ficar posicionado na veia cava craneal, junto ao átrio direito. A veia jugular foi ligada proximalmente e o conjunto veia e cateter foi atado distalmente. O cateter foi novamente fixado com o mesmo fio para prevenir deslocamento do mesmo. Durante todo o procedimento de fixação do disco metálico e do cateter o mesmo foi aspirado e irrigado para certificar-se de que nenhum nó obstruiu a luz deste. A ferida cirúrgica foi fechada com plano único contínuo com fio de polipropileno 3-0.

Após a colocação do cateter, os ratos foram acondicionados individualmente em gaiolas metabólicas e foram divididos aleatoriamente para receberem solução salina isotônica (grupo-controle) ou solução de nutrição parenteral, ambas com infusão contínua (2 ml/hora), com o auxílio de bomba infusora volumétrica (Imed 960, Imed, San Diego, Califórnia, EUA). Cada grupo foi composto de 8 ratos. Ao grupo-controle foi oferecida água e a mesma ração do período de aclimatização *ad libitum*, enquanto ao grupo parenteral foi oferecida apenas água.

TABELA 1. COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO E DA SOLUÇÃO DE NUTRIÇÃO PARENTERAL UTILIZADAS NO EXPERIMENTO 1

RAÇÃO *	NUTRIÇÃO PARENTERAL **
Proteína.....25%	Proteína.....20%
Gordura.....20%	Lipídios (TCL).....25g
Calorias.....3,5kcal/g	Calorias.....1 kcal/ml
<u>Aminoácidos essenciais</u> (g/kg de ração)	<u>Aminoácidos essenciais</u> (g/litro de solução)
lisina.....14	lisina.....3,05
leucina.....18,6	leucina.....2,64
fenilalanina.....17,3	fenilalanina.....2,77
valina.....12,0	valina.....2,50
isoleucina.....12,0	isoleucina.....1,94
metionina.....4,0	metionina.....1,94
treonina.....9,3	treonina.....1,94
triptofano.....2,7	triptofano.....0,70
	<u>Eletrólitos</u> (ml/litro de solução)
	cloreto de sódio 10%.....20ml
	cloreto de potássio 19,1% ..10ml
	gluconato de cálcio 10%.....10ml
	sulfato de magnésio 10%.....10ml
	fosf. ác. potássio 10 mEq/ml.1ml

* Ingestão diária aproximada por rato = 15 g

** Infusão diária aproximada por rato = 48 ml

A solução de nutrição parenteral consistiu em mistura nutritiva do tipo 3 em 1¹⁸. Foi composta de aminoácidos (Novamine, Kabi-Vitrum, Estocolmo, Suécia), glicose a 50% e emulsão de lipídios composta por triglicerídeos de cadeia longa (Intralipid, Kabi-Vitrum, Estocolmo, Suécia). Foram adicionados eletrólitos, e a composição da solução de nutrição parenteral encontra-se na tabela 1. As soluções de nutrição parenteral foram preparadas sob fluxo laminar na Farmácia Central do

Hospital Universitário da Universidade Estadual de Nova York, em Syracuse, Nova York, EUA, e forneciam aproximadamente 1 kcal/ml. Diariamente foi determinada a ingesta oral de ração de cada rato do grupo-controle.

3.1.2. Sacrifício

Após 7 dias, os ratos receberam dose letal de anestésico endovenoso (5 ml de hidrato de cloral a 3%) e foram novamente pesados. A seguir, foi realizada tricotomia abdominal, incisão xifopúbica e removeu-se o intestino delgado, separando-o do mesentério. O intestino foi aberto longitudinalmente e foram removidos resíduos alimentares porventura presentes na luz intestinal. Todas as manipulações sobre o intestino foram feitas com o mesmo estendido sobre placa de vidro, graduada em centímetros, sobre o gelo, de forma a evitar desidratação excessiva. Após obter-se o peso do intestino delgado, os primeiros 15 cm do jejuno foram estendidos sobre a placa de vidro sob tensão constante, com o auxílio de fitas elásticas, e removeu-se cuidadosamente a mucosa por raspagem, a qual foi colocada em tubos pré-pesados. O peso da mucosa foi anotado e, em seguida, a mesma foi homogenizada com solução salina e armazenada a -70°C para posterior análise do conteúdo de proteína total, DNA e RNA da mucosa. A proteína total foi dosada por método de reagente fenólico⁶⁰, o DNA, por estimativa colorimétrica com reação da difenilamina³⁸ e o RNA, por método de absorção de ultravioleta³⁵.

3.2. Experimento 2

Foram utilizados nesta pesquisa 32 ratos Wistar, machos, adultos, com peso médio inicial de $338,71 \pm 11,40$ g, provenientes do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Toda a manipulação dos ratos foi realizada nas dependências do Centro de Pesquisas do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba. Os ratos foram acondicionados em gaiolas coletivas plásticas e tiveram livre acesso a água e ração sólida para ratos (NUVILAB-CR1, Nuvital, Curitiba) *ad libitum*. A ração utilizada forneceu 3 kcal/g e sua composição encontra-se na tabela 2. As condições ambientais foram mantidas constantes, com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo de dia/noite de 12 horas (8:00 - 20:00 horas) controlado eletronicamente (Cronomat, Mallory do Brasil, São Paulo). Os ratos foram aclimatizados por um período mínimo de 14 dias antes de qualquer manipulação.

3.2.1. Técnica operatória

Os ratos foram pesados e, sob efeito de anestesia inalatória com éter, procedeu-se a tricotomia ampla da região cervical e dorsal e antissepsia com polivinil-pirrolidona-iodo. Os ratos foram fixados sobre plataforma e foram colocados campos de aplicação indireta. A exposição da veia jugular e a confecção do túnel subcutâneo foram feitos como descrito anteriormente para o experimento 1. A seguir, o procedimento diferia de acordo com o grupo a que pertencia o rato.

TABELA 2. COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO E DA SOLUÇÃO DE NUTRIÇÃO PARENTERAL UTILIZADAS NO EXPERIMENTO 2

RAÇÃO *	NUTRIÇÃO PARENTERAL **
Proteína.....23%	Proteína.....20%
Extrato etéreo.....4,5%	Lipídios (TCL).....12,5 g
Matéria mineral.....9,0%	(TCM).....12,5 g
Matéria fibrosa.....6,0%	<u>Aminoácidos essenciais</u>
Cálcio.....1,4%	(g/litro de solução)
Fósforo.....0,8%	lisina.....7,9
	leucina.....8,0
<u>Aminoácidos adicionados *</u>	fenilalanina.....5,1
Metionina.....300 mg	valina.....4,8
Lisina.....100 mg	isoleucina.....5,1
	metionina.....3,8
<u>Composição básica</u>	treonina.....4,1
milho, subprodutos do tri-	triptofano.....1,8
go, farinha de torta de so-	
ja, farinha de peixe e de	<u>Eletrólitos</u>
carne, bifosfato de cálcio	bicarbonato de sódio 5%...10ml
e sal comum	cloreto de sódio 20%.....20ml
	gluconato de cálcio 10%...10ml
	fosf. ác. potássio 1mEq/l.10ml
	sulfato de magnésio 10%...10ml
	cloreto de potássio 19,1%.10ml
<u>Calorias:</u>	<u>Calorias:</u>
3,0 kcal/g de ração	1 kcal/ ml de solução

* Composição por quilo de ração (ingestão diária aproximada por rato= 23g)

** Composição por litro de solução (infusão diária aproximada por rato=72 ml)

Grupo-Controle

Dezesseis ratos foram alocados no grupo-controle. Após a confecção do túnel subcutâneo, retirou-se a agulha de subclávia, a veia jugular foi ligada com fio de algodão 4-0 e a incisão cervical foi fechada com fio de polipropileno 3-0. A seguir, os ratos foram acondicionados individualmente em

gaiolas metabólicas e tiveram livre acesso a água e ração moída para ratos (NUVILAB-CR1, Nuvital, Curitiba, Pr).

Grupo Parenteral

O grupo parenteral foi constituído por 16 ratos. Após a realização do túnel subcutâneo, o cateter de silicone (Silastic Medical Grade Tubing, Dow Corning, Midland, Michigan, EUA) foi exteriorizado para a ferida ventral e o procedimento foi semelhante ao descrito para o experimento 1. Após o posicionamento do cateter na veia cava craneal, o mesmo foi fixado e a ferida ventral foi fechada com plano único de polipropileno 3-0. O conjunto cateter, disco e espiral metálicos e intermediário "swivel-joint" havia sido preparado, acondicionado e esterilizado em óxido de etileno como descrito para o experimento 1. Os ratos foram acondicionados individualmente em gaiolas metabólicas. A infusão de solução de nutrição parenteral foi contínua, a uma velocidade de 3 ml/h, com o auxílio de bomba de infusão peristáltica (NUTRIMAT EP 20, B. Braum, São Gonçalo, Rio de Janeiro).

A solução de nutrição parenteral foi composta de aminoácidos (Aminoplasmal, B.Braum, São Gonçalo, RJ), glicose a 50 % e emulsão lipídica a 10%, composta por triglicerídeos de cadeia longa e de cadeia média (Lipofundin, B.Braum, São Gonçalo, RJ) e eletrólitos, conforme demonstrado na tabela 2. As soluções de nutrição parenteral foram preparadas em condições assépticas, sob fluxo laminar, na Farmácia Central do

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e forneceram aproximadamente 1 kcal/ml.

As gaiolas metabólicas utilizadas foram desenhadas e construídas pela REFRIPAR (Refrigeração Paraná, Curitiba, Pr) e, para sua utilização adequada, de forma a permitir a infusão contínua de nutrição parenteral para ratos, foram necessárias algumas modificações e adaptações, previamente descritas ⁶⁴.

Oclusão intestinal

Após sete dias de infusão endovenosa de nutrição parenteral ou de alimentação por via oral, metade dos ratos de cada grupo (n=8) foi submetida a oclusão intestinal. Para tanto, sob anestesia inalatória com éter, os ratos foram novamente pesados, submetidos a tricotomia abdominal ampla e foi realizada antissepsia com polivinil-pirrolidona-iodo. Através de laparotomia mediana ampla, realizou-se oclusão do íleo terminal, por meio de ligadura com fio de polipropileno 4-0. A agulha foi passada junto ao bordo mesentérico do íleo terminal, a 1 cm da implantação do íleo no ceco, de forma a evitar lesão dos vasos mesentéricos e, conseqüentemente, interferir na vascularização do intestino. A ferida abdominal foi fechada com plano mesentérico-aponeurótico único, com fio de polipropileno 3-0. A pele foi fechada com sutura contínua de polipropileno 3-0. Nos ratos do subgrupo oclusão, após a ligadura do íleo terminal, foram suspensas a alimentação oral no grupo-controle e a nutrição parenteral no grupo parenteral.

Água foi oferecida *ad libitum* a ambos os grupos. Todos os ratos foram sacrificados 12 horas após a oclusão intestinal.

3.2.2. Coleta de dados

Foram coletados dados de ingestão calórica e hídrica e de excreção de urina e fezes, diariamente, na primeira hora de luz (8:00-9:00 horas), do primeiro ao 6º dia do experimento. Os dados do sétimo dia não foram coletados, porque neste dia foi realizada a oclusão intestinal dos subgrupos oclusão e foram suspensas a nutrição parenteral do grupo parenteral e a ração do grupo-controle. Na manhã do oitavo dia os ratos foram submetidos a anestésia inalatória com éter e realizou-se tricotomia abdominal ampla e antissepsia com polivinilpirrolidona-iodo. Através de incisão xifopúbica, puncionou-se a veia cava caudal e aspirou-se cerca de 7 ml de sangue. O sangue foi enviado para o Laboratório Paranálise, de Curitiba, onde foram realizados os seguintes exames: dosagem de albumina sérica, pelo método do bromocresol (Labtest, Belo Horizonte, MG), glicemia, pelo teste colorimétrico (Biodiagnóstica, Piraquara, Pr) e hemograma, através de contagem eletrônica (Conter Diluter II, Hialeah, Florida, EUA) e extensão em lâmina com microscopia de imersão com aumento de 1000 vezes.

Em seguida, retiraram-se o fígado, baço, linfonodo mesentérico e intestino delgado. O procedimento foi realizado sob estritas condições de assepsia e foram utilizados jogos de pinças e tesouras esterilizadas para cada órgão. Os órgãos retirados foram colocados imediatamente em placas de Petri

esterilizadas e pesados isoladamente. A seguir, retiraram-se amostras histológicas, as quais foram preservadas em formalina a 10%. A amostra histológica do jejuno correspondeu a 1 cm de extensão de intestino delgado, localizado a 10 cm do ângulo duodeno-jejunal. O peso do remanescente de cada órgão ressecado foi anotado e o órgão mergulhado em solução salina esterilizada. O material assim acondicionado foi encaminhado imediatamente ao laboratório de microbiologia do Instituto de Tecnologia do Paraná, TECPAR. O intestino delgado foi aberto longitudinalmente e seu conteúdo esvaziado antes de ser pesado. Para a determinação do peso dos órgãos foi utilizada balança de precisão (AM 5500 Automarte, Marte, SP).

3.2.3. Estudo microbiológico

Os órgãos acondicionados individualmente em solução salina isotônica foram inicialmente macerados em gral e pistilo esterilizados, sob fluxo laminar e, progressivamente, diluídos até diluições de 10^{-6} . As alíquotas foram distribuídas nos meios de Teague e Agar Salmonella-Shiguelia, que são meios seletivos e indicadores, sempre em duplicata. Outras alíquotas de 1 ml foram distribuídas em placas de Petri e a seguir foram adicionados os meios de cultivo fundidos para contagem bacteriana. Para a contagem das bactérias aeróbicas foi utilizado o "Plate Count Agar" (DIFCO). Para a pesquisa de bactérias anaeróbicas adicionou-se ágar-sangue enriquecido com vitamina K-hemina mais kanamicina-penicilina e cultivou-se em ambiente anaeróbico (jarra *Gas Pack*, com gerador de anaerobiose

Merck) ⁵⁷. Todos os meios de cultivo foram incubados após semeadura a 37°C por 24 a 48 horas. Para a identificação das bactérias foram utilizados testes bioquímicos convencionais de diagnóstico em microbiologia ¹⁰.

Para a determinação quantitativa, contaram-se as unidades formadoras de colônias (UFC) e multiplicou-se o total pela diluição correspondente. Todas as contagens foram avaliadas em duplicata, e o valor numérico utilizado foi a média de todas as contagens de UFC da amostra, expressas em logaritmo por grama de tecido ⁵⁹.

3.2.4. Estudo histológico

As amostras histológicas foram acondicionadas individualmente em frascos contendo formalina a 10% e foram processadas no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Os fragmentos foram recortados e incluídos em parafina, segundo técnica histológica padronizada. O material foi seccionado no micrótomo, com cortes de 5 micra de espessura. Os cortes assim obtidos foram corados com hematoxilina-eosina (H.E.) e examinados ao microscópio óptico. Para a pesquisa de bactérias foram utilizadas as colorações de Gram e de Goodpasture-MacCallum ¹.

3.2.5. Análise estatística

Todos os dados obtidos foram tabulados e processados estatisticamente através de programa para bioestatística

Software Científico - SOC, desenvolvido pela EMBRAPA ⁷⁴. Para os dados de ingesta e excreta foi utilizada a análise multivariada de perfil, aplicada aos dados longitudinais ⁸⁴. As médias do peso corporal inicial e final foram comparadas, em cada grupo, entre si e entre os grupos, pelo teste t de Student pareado e não pareado. Também foram comparadas as médias das diferenças entre o peso final e inicial para cada grupo. Para a comparação dos exames laboratoriais e dos dados de cultura do jejuno entre os grupos, foi utilizada a análise de variância. No caso da igualdade ser rejeitada, foi utilizado o teste de Tukey. Para a análise do peso dos órgãos, foi utilizada a análise de covariância com médias corrigidas para um peso inicial médio. Nas comparações entre grupos com diferentes variabilidades foi aplicada a análise de variância com variâncias diferentes. Os resultados das culturas dos órgãos foram analisados com o teste exato de Fisher para a comparação de proporções para duas amostras independentes e o teste do qui quadrado com correção de Yates para pequenas amostras, para a comparação das quatro amostras independentes⁸⁶. Foi utilizado intervalo de confiança de 95%.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1

Os ratos de ambos os grupos do experimento 1 permaneceram ativos nas gaiolas metabólicas durante todo o experimento, e não foram observados sinais clínicos de infecção em nenhum rato.

4.1.1. Peso Corporal

O peso corporal inicial e final dos ratos do experimento 1 estão listados na tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o peso inicial e final entre os grupos parenteral e controle. Na tabela 4 encontram-se as variações de peso de ambos os grupos e não houve diferença significativa entre eles.

TABELA 3. PESO CORPORAL INICIAL E FINAL EM GRAMAS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 1

GRUPO	PESO INICIAL * (média±EP)	PESO FINAL ** (média±EP)
Controle (n=8)	268,57±3,04	280,71±1,91
NP (n=8)	270,00±2,99	279,17±2,09

EP = erro padrão

NP = grupo nutrição parenteral

* p= 0,874

** p= 0,941

4.1.2. Composição do Intestino Delgado

O conteúdo de proteína total, DNA e RNA na mucosa dos ratos dos grupos controle e nutrição parenteral do experimento 1 encontram-se listados na tabela 5. Não houve diferença

estatisticamente significativa entre o conteúdo de proteína total e de DNA dos grupos controle e nutrição parenteral. Entretanto, o peso da mucosa e o conteúdo de RNA foram significativamente menores no grupo que recebeu nutrição parenteral em relação aos controles.

TABELA 4. VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL EM GRAMAS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 1

GRUPO	VARIAÇÃO * (média±EP)
Controle (n=8)	12,14±2,49
NPT (n=8)	9,17±3,81

* p = 0,437

TABELA 5. CONTEÚDO DE PROTEÍNA TOTAL, DNA E RNA NA MUCOSA DOS RATOS DO EXPERIMENTO 1

ÍNDICE	CONTROLE (média±EP)	NP (média±EP)	P
Proteína total (mg/g de mucosa)	60,77±8,77	49,78±4,73	0,174
DNA (mg/g de mucosa)	0,439±0,07	0,346±0,03	0,171
RNA (ug/g de mucosa)	4,319±0,66	1,980±0,44	0,012
Peso mucosa (g/cm de intestino)	26,9±0,75	16,9±1,07	p<0,001

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

4.2. Experimento 2

Os ratos de ambos os grupos do experimento 2 permaneceram ativos nas gaiolas metabólicas durante todo o experimento e não apresentaram sinais clínicos de infecção. Não foram observadas complicações infecciosas na ferida operatória ou no trajeto subcutâneo em nenhum rato. Todos os ratos dos subgrupos oclusão suportaram clinicamente bem o período de 12 horas de oclusão.

4.2.1. Peso Corporal

Os pesos corporais inicial e final dos ratos do experimento 2 estão listados na tabela 6, enquanto as variações dos pesos corporais encontram-se na tabela 7. Não houve diferença significativa nos pesos iniciais e finais entre os grupos. A variação do peso corporal também não foi estatisticamente diferente entre os grupos.

TABELA 6. PESO CORPORAL INICIAL E FINAL EM GRAMAS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

GRUPO	PESO INICIAL*	PESO FINAL**
	(média±EP)	(média±EP)
Controle (n=16)	345,53±11,50	348,06±12,24
NP (n=16)	331,90±11,31	343,82±11,10

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

* (p=0,405)

** (p=0,799)

4.2.2. Dados de ingestão e excreção

As curvas dos dados de ingestão de calorias estão representadas na figura 1 e listadas na tabela A-1. A análise longitudinal dos dados revelou que tanto os ratos do grupo parenteral como os ratos do grupo-controle aumentaram progressivamente a ingestão de calorias ao longo dos 7 dias do experimento de maneira significativa. Entretanto, o grupo-controle apresentou menor ingestão de calorias do que o infundido no grupo parenteral no primeiro dia do experimento, enquanto a ingestão calórica do grupo-controle superou a infusão de calorias do grupo parenteral a partir do 4º dia do experimento.

TABELA 7. VARIAÇÃO EM GRAMAS DO PESO CORPORAL DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

GRUPO	VARIAÇÃO * (média±EP)
Controle (n=16)	0,71±1,02
NP (n=16)	3,79±1,36

EP= erro padrão
 NP= grupo nutrição parenteral
 * (p=0,080)

As curvas de ingestão de água estão representadas na figura 2 e expressas na tabela A-2. A ingestão de água foi significativamente menor no grupo parenteral em relação ao grupo-controle, durante todo o experimento, e não variou significativamente. Entretanto, a análise longitudinal dos

Ingestão de calorias (Kcal/24 h)

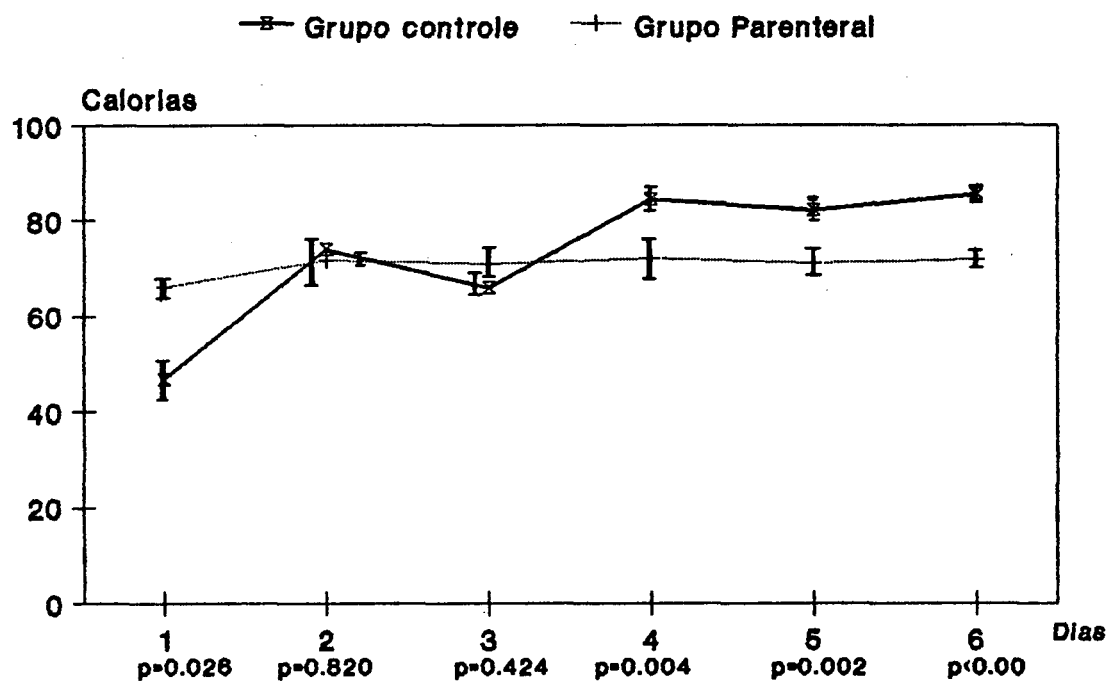


FIGURA 1. INGESTÃO DE CALORIAS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2
* As médias do grupo-controle aumentam com o tempo (p=0,002)
** As média do grupo nutrição parenteral aumentam com o tempo (p<0,001)

Ingestão de água (ml/24 h)

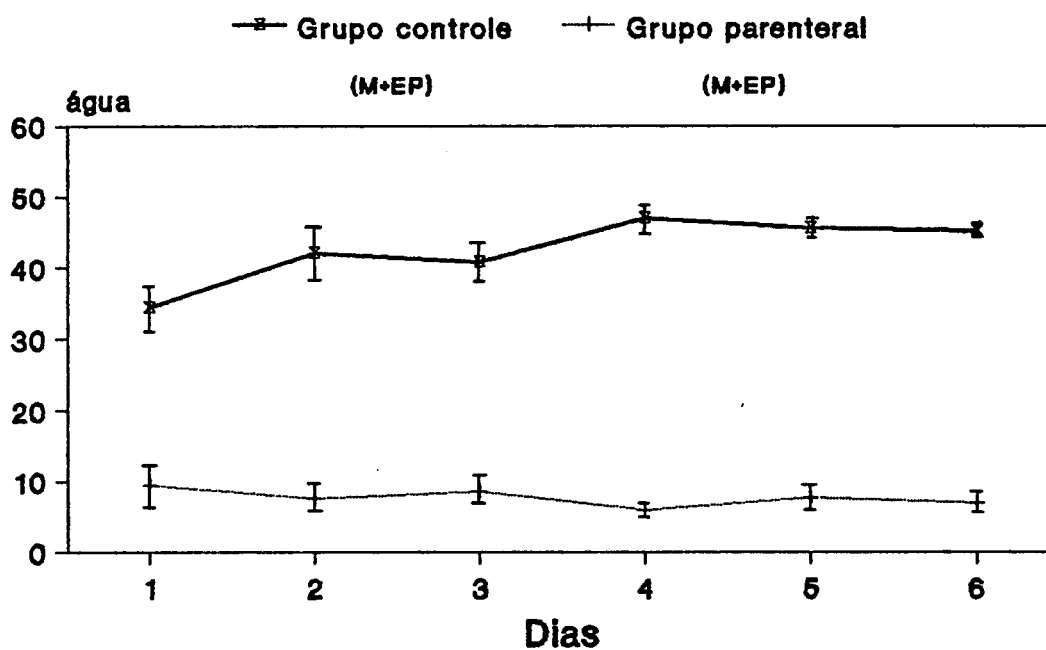


FIGURA 2. INGESTÃO DE ÁGUA NOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

* As médias do grupo-controle aumentam com o tempo ($p=0,007$)

** As médias do grupo nutrição parenteral não variam com o tempo ($p=0,662$)

dados revelou aumento progressivo da ingestão hídrica no grupo controle ao longo do experimento.

Na figura 3 estão representados os dados de excreção de fezes, os quais estão listados na tabela A-3. Esta foi significativamente maior no grupo-controle em relação ao grupo parenteral durante todo o experimento. A análise longitudinal dos dados revelou diminuição progressiva da excreção fecal no grupo parenteral, enquanto esta aumentou progressivamente no grupo-controle.

Os dados de diurese estão representados na figura 4 e listados na tabela A-4. Esta foi significativamente maior no grupo parenteral do que no grupo-controle durante todo o experimento. A análise longitudinal dos dados demonstrou não haver variação significativa do volume urinário em ambos os grupos ao longo do tempo.

4.2.3. Peso dos órgãos

Os dados dos pesos dos órgãos estão relatados na tabela 8 e foram estudados através da análise de covariância, com médias corrigidas para um peso inicial médio de 338,71 g. Os ratos do grupo parenteral apresentaram aumento significativo do peso do fígado, baço e linfonodo mesentérico e diminuição significativa do peso do intestino delgado em relação aos ratos do grupo-controle. A variabilidade do peso do baço foi maior nos ratos do grupo parenteral e esta informação foi considerada na análise estatística.

Excreção de fezes (g/24 h)

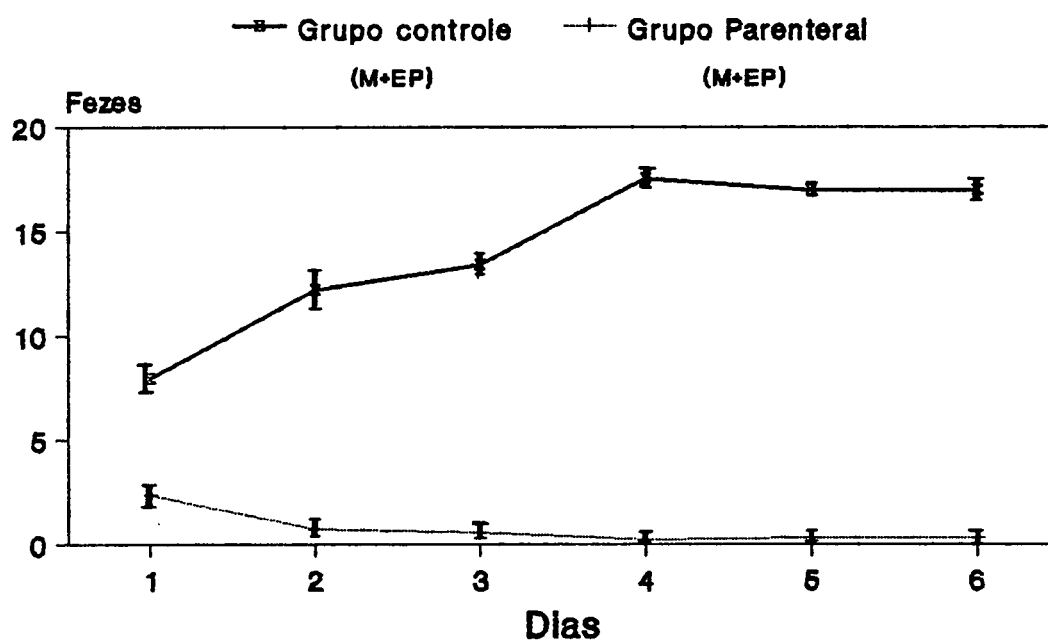


FIGURA 3. EXCREÇÃO DE FEZES NOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

* As médias do grupo-controle aumentaram com o tempo ($p < 0,001$)

** As médias do grupo NP diminuíram com o tempo ($p < 0,001$)

Volume urinário (ml/24 h)

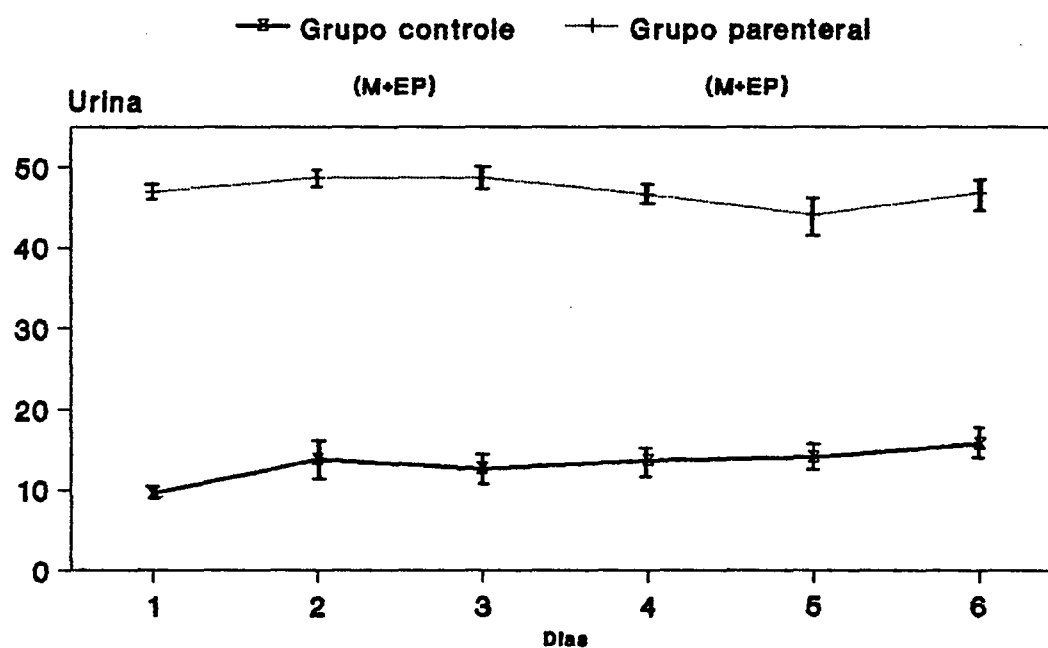


FIGURA 4. VOLUME URINÁRIO DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

* As médias dos 2 grupos não variaram significativamente ao longo do tempo ($p=0,186$).

TABELA 8. PESO EM GRAMAS DOS ÓRGÃOS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 *

Órgão	Controle (média±EP)	NP (média±EP)	P
FÍGADO	11,69±0,53	13,69±0,62	<0,001
BAÇO	0,50±0,02	1,31±0,15	<0,001
LNM	0,46±0,02	0,71±0,06	<0,001
DELGADO	6,49±0,28	4,97±0,18	<0,001

* Análise de covariância, com médias corrigidas para um peso inicial médio de 338,71 g.

EP= erro padrão

NP= grupo Nutrição Parenteral

LNM= linfonodo mesentérico

4.2.4. Exames laboratoriais

Os resultados dos exames laboratoriais estão expressos na tabela 9. A albumina sérica não variou de maneira significativa entre os grupos. A glicemia e a hemoglobina foram menores no grupo parenteral, enquanto a contagem de leucócitos e linfócitos foi maior neste grupo.

TABELA 9. EXAMES LABORATORIAIS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

DIA	Controle (média±EP)	NP (média±EP)	P
Glicemia (mg/dl)	161,99±6,31	138,62±8,81	0,039
Albumina (g/dl)	2,27±0,09	2,04±0,08	0,072
Hemoglobina (g/dl)	16,29±0,31	13,93±0,45	<0,001
Leucócitos (N/dl)	12693±607	18825±1438	<0,001
Linfócitos (N/dl)	4895±302	9562±933	<0,001

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

N= contagem absoluta

4.2.5. Culturas do intestino delgado

Em 78,6% das culturas de jejuno positivas foi identificada *E. coli*. *Proteus sp* foi isolado em 21,4% dos casos, *Klebsiella pneumoniae*, em 14,3% e bacilos não fermentadores, em 7,2%. As contagens das culturas de intestino delgado foram avaliadas em conjunto e para cada subgrupo em separado. A análise em conjunto, expressa na tabela 10, revelou não haver diferença significativa entre os grupos. Na tabela 11 estão expressos os resultados dos subgrupos separadamente. A análise de variância não identificou diferenças significativas entre os subgrupos estudados.

TABELA 10. CULTURA DO INTESTINO DELGADO DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 (log UFC/g tecido)

GRUPO	MÉDIA±EP *
Controle (n=16)	3,20±0,44
NP (n=16)	3,72±0,49

EP = erro padrão

NP = grupo nutrição parenteral

* p= 0,431

TABELA 11. CULTURA DO INTESTINO DELGADO EXPRESSA PARA CADA SUBGRUPO DE RATOS DO EXPERIMENTO 2 (log UFC/g tecido)

GRUPO	média±EP*
Controle (n=8)	3,25±0,70
Controle-oclusão (n=8)	2,94±0,41
NP (n=8)	3,14±0,57
NP-oclusão (n=8)	4,49±0,82

EP = erro padrão

NP = grupo nutrição parenteral

* p= 0,331

4.2.6. Culturas dos órgãos

Os resultados das culturas de órgãos estão relatadas nas tabelas 12, 13 e 14. A análise da influência da nutrição parenteral sobre a incidência de translocação bacteriana, expressa na tabela 12, não identificou diferenças significativas entre os grupos parenteral e controle. Das três culturas de órgãos positivas, todas ocorreram no baço. Em dois

casos foi identificada *E. coli* e no outro caso *E. coli* e *Proteus sp.*

TABELA 12. CULTURA DE ÓRGÃOS POSITIVAS NOS RATOS DO EXPERIMENTO 2

GRUPO	N*
Controle	0/16
NP	3/16

NP = grupo nutrição parenteral

N = número de culturas positivas/número de ratos

* p= 0,226

Na tentativa de identificar-se possível influência da oclusão intestinal sobre a ocorrência de translocação bacteriana, foram agrupados na tabela 13 os subgrupos com e sem oclusão e não foram identificadas diferenças significativas. Finalmente, na tabela 14 foram analisados os índices de translocação bacteriana por subgrupos, separadamente. Como nas análises anteriores, também não foram identificadas diferenças significativas entre os subgrupos.

TABELA 13. CULTURA DE ÓRGÃOS POSITIVAS NOS RATOS COM E SEM OCLUSÃO INTESTINAL DO EXPERIMENTO 2

GRUPO *	N
Grupos sem oclusão	1/16
Grupos com oclusão	2/16

N = número de culturas positivas/número de ratos

* p= 1,000

TABELA 14. CULTURA DE ÓRGÃOS POSITIVAS EXPRESSAS PARA CADA SUBGRUPO DO EXPERIMENTO 2

GRUPO	N*
Controle	0/8
Controle-oclusão	0/8
NP	1/8
NP-oclusão	2/8

N = número de culturas positivas/número de ratos

NP = grupo nutrição parenteral

* p= 0,256

4.2.7. Estudo histopatológico

Fígado

No grupo-controle sem oclusão intestinal foram observados hepatócitos com citoplasma granular, em função das organelas levemente basófilas, com núcleo vesicular único, de cromatina mais periférica e nucléolo nítido. Nos ratos do subgrupo-controle com oclusão intestinal foi observada discreta vacuolização dos núcleos e tumefação hepatocitária. Em um rato houve proliferação das células de Kuppfer.

Nos ratos do subgrupo parenteral sem oclusão intestinal foram observadas, no fígado, esteatose microgoticular de intensidade leve a moderada. Em 3 ratos havia vacúolos mais pronunciados, configurando os "cistos de Hartroft", que são vacúolos grandes que deformam a célula. Esta esteatose ocorreu predominantemente na periferia dos lóbulos, poupando os dois terços centrolobulares. Acompanhou a degeneração gordurosa

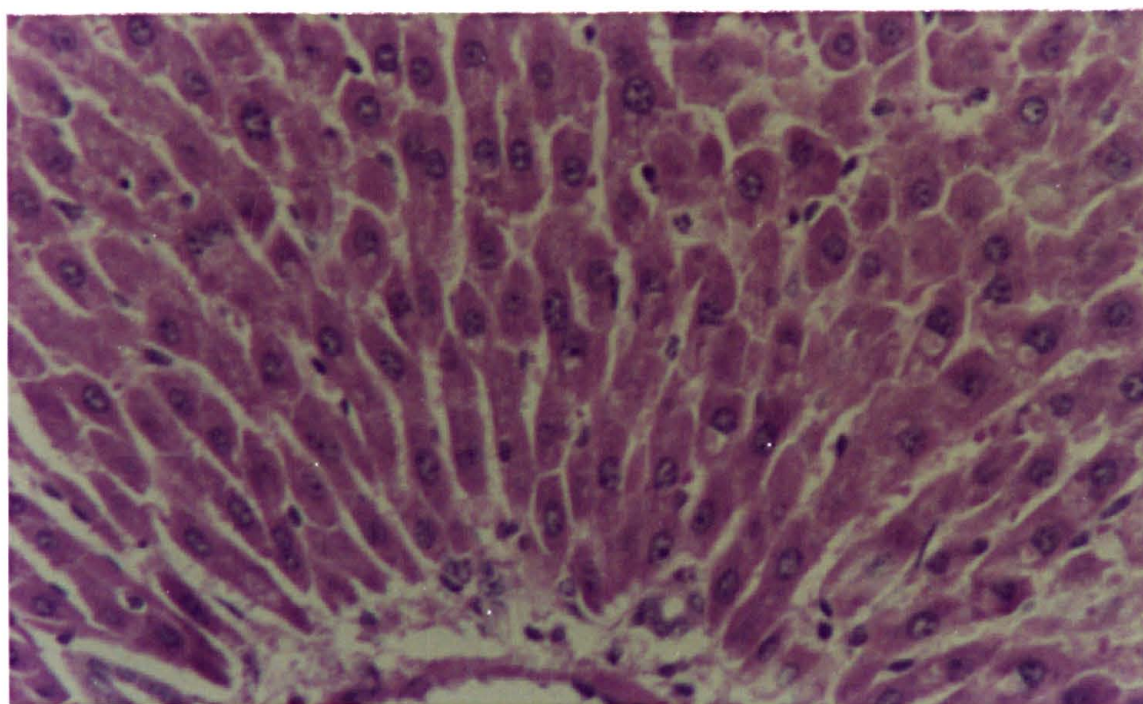
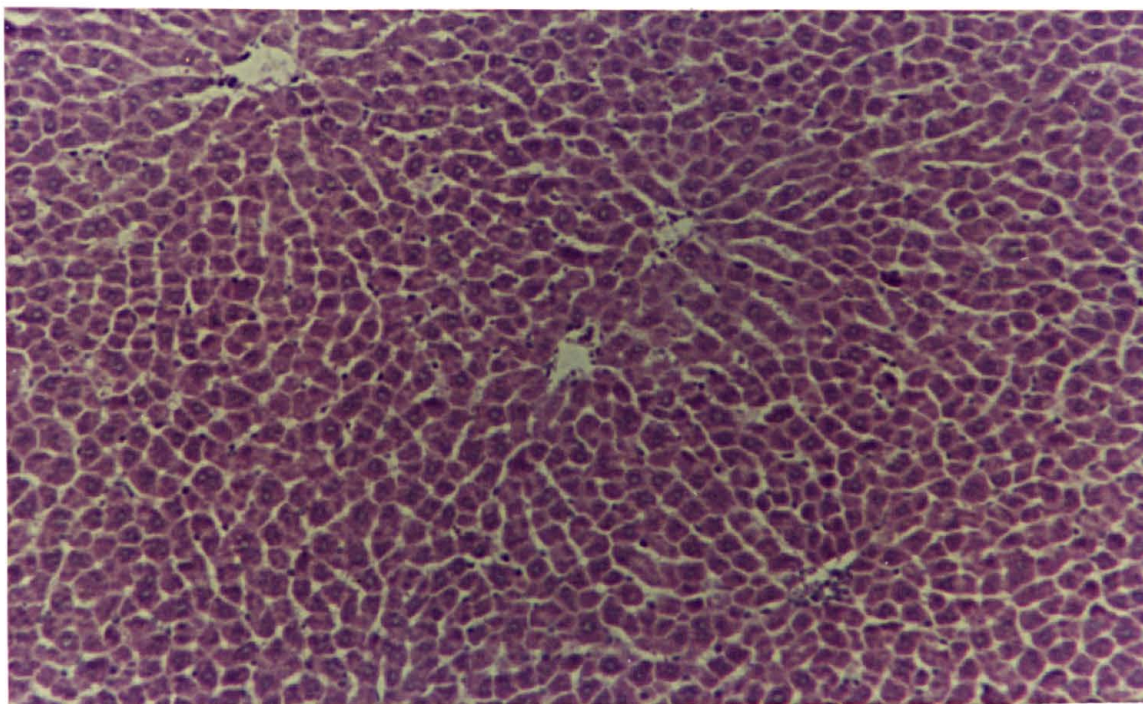


FIGURA 5. FÍGADO DE RATO DO GRUPO-CONTROLE
Acima, visão panorâmica mostrando espaços-porta e veia
centrolobular com trabéculas hepáticas bem
individualizadas. (H.E. 63X). Abaixo, detalhe da imagem
anterior destacando a preservação da estrutura trabecular
(H.E. 160X)

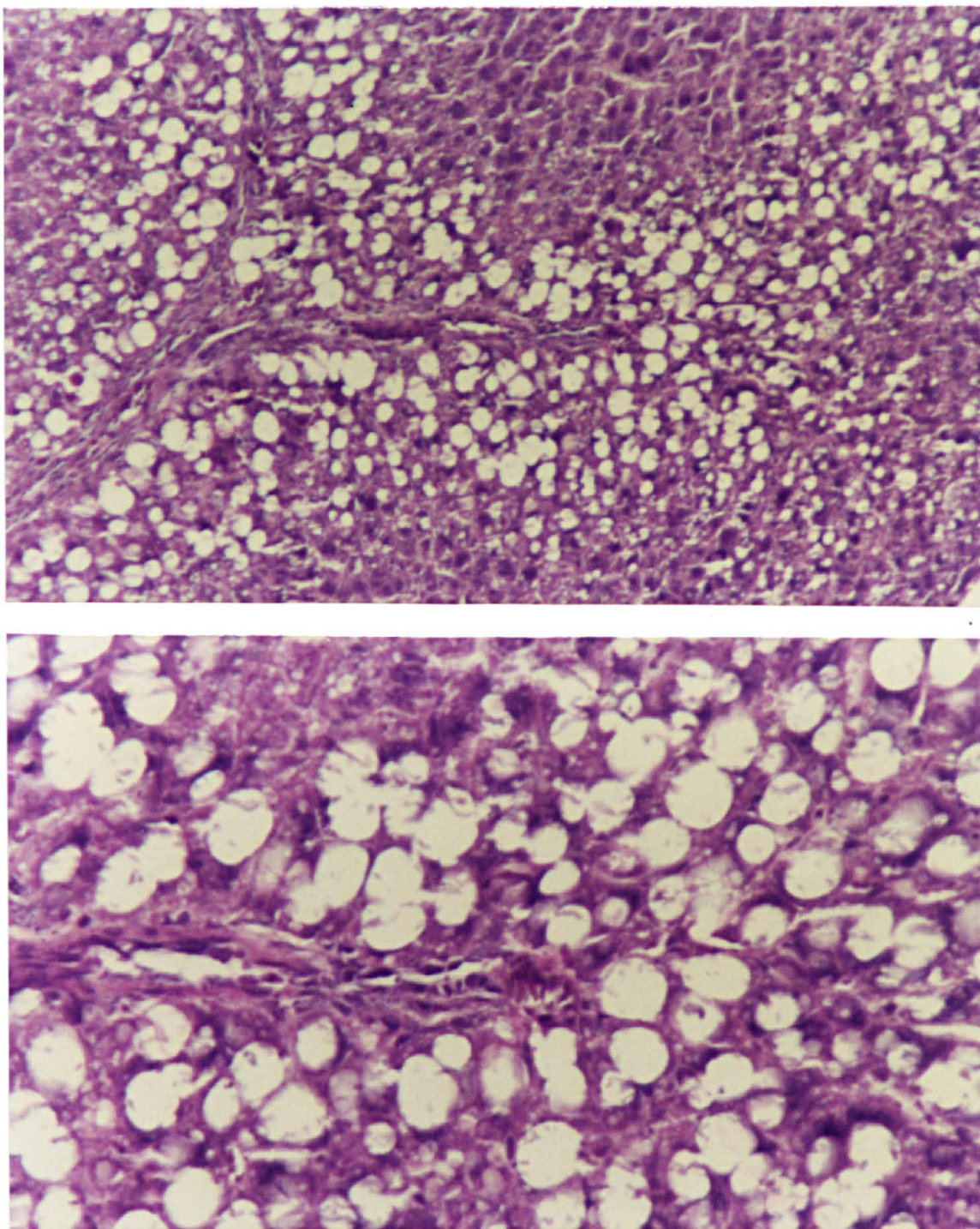


FIGURA 6. FÍGADO DE RATO DO GRUPO PARENTERAL

Acima, destaque para a acentuada esteatose perilobular e alongamento do espaço-porta (H.E. 63X). Abaixo, detalhe da fotomicrografia anterior demonstrando a deformação dos hepatócitos chegando à formação de "cistos de Hartroft" (H.E.160X).

do fígado moderado grau de processo regenerativo, traduzido por binucleação, hipercromatismo e certa irregularidade trabecular. Houve também discreta proliferação das células de Kupffer. Nos ratos do subgrupo parenteral com oclusão intestinal foram observadas alterações semelhantes às descritas para o grupo mantido em nutrição parenteral, porém com maior intensidade. Também foram observadas alterações regenerativas e proliferação das células de Kupffer.

Jejuno

No grupo-controle os cortes longitudinais apresentaram relação cripta-vilosidade de aproximadamente 1:2 a 1:2,5. No subgrupo-controle com oclusão intestinal os achados foram semelhantes, exceto pela presença de discreta congestão vascular e leve reação peritoneal.

A principal alteração no jejuno do grupo parenteral foi a presença de discreta redução na altura das vilosidades e aumento relativo das criptas, com relação cripta-vilosidade variando de 1:1 a 1:1,5. As alterações atróficas das vilosidades foram moderadas. No subgrupo com oclusão intestinal as alterações foram semelhantes.

Baço

Os ratos do grupo controle exibiram folículos de Malpighi com centro germinativo evidente, porém pequeno. Foram nítidas a camada do manto e os linfócitos mais jovens na camada marginal. Os folículos contrastaram com a poupa vermelha, onde

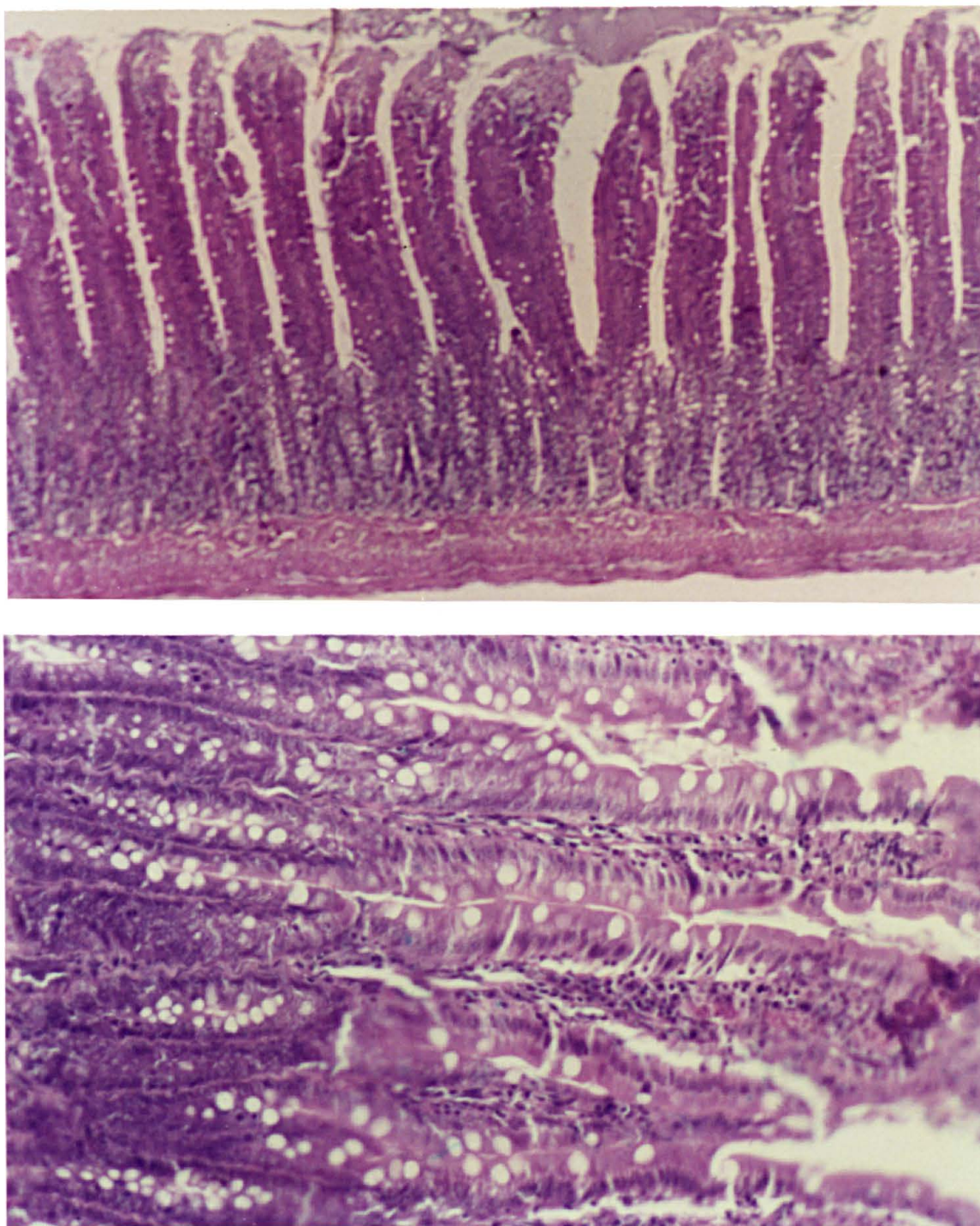


FIGURA 7. JEJUNO DE RATO DO GRUPO-CONTROLE
Acima, visão panorâmica mostrando relação cripta-
vilosidade preservada (H.E. 63X). Abaixo, detalhe das
vilosidades demonstrando planura estriada preservada e
distribuição normal das células caliciformes e
enterócitos (H.E., 160X).

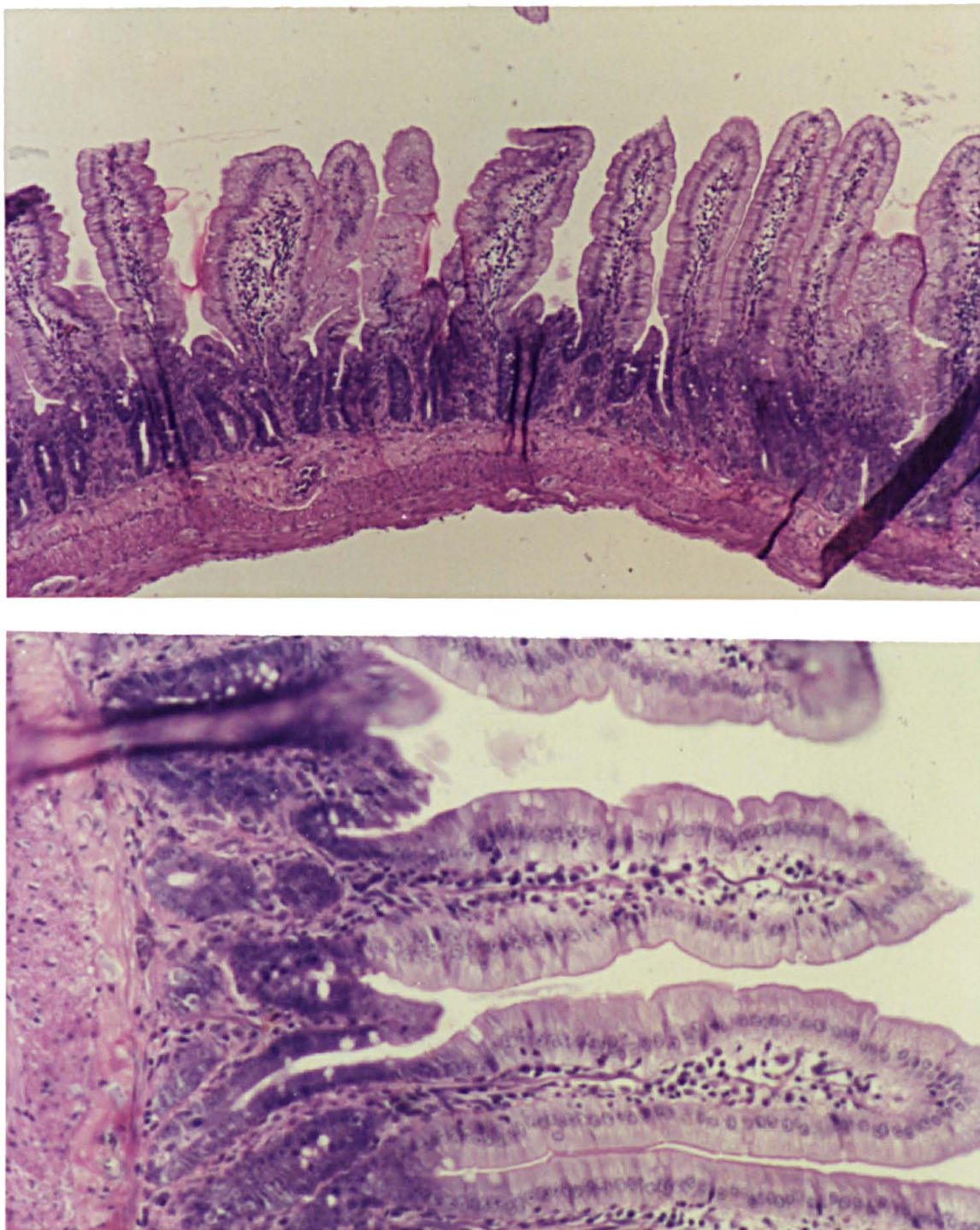


FIGURA 8. JEJUNO DE RATO DO GRUPO PARENTERAL
Acima, visão panorâmica demonstrando encurtamento das vilosidades (H.E. 63X). Abaixo, detalhe das vilosidades, demonstrando encurtamento em relação ao grupo-controle e redução das células caliciformes (H.E. 160X).

foi vista a cor pardo-amarelada de pigmento hemático. Os ratos do subgrupo-controle com oclusão intestinal apresentaram baço de características histológicas semelhantes ao grupo-controle. Em 3 ratos deste grupo houve discreta hiperplasia e aumento dos centros germinativos.

No subgrupo parenteral sem oclusão intestinal foi observado aumento de células brancas, principalmente da zona marginal à camada do manto (linfócitos maiores e imunoblastos). Células semelhantes preencheram também a polpa vermelha. Os centros germinativos estiveram aumentados levemente, porém sem reação e o aumento do folículo deveu-se principalmente ao aumento da camada marginal. Não houve congestão ou realce dos sinusóides. Portanto, houve hiperplasia da polpa branca esplênica, não congestiva. No subgrupo de ratos recebendo nutrição parenteral com oclusão intestinal foram observadas alterações semelhantes às descritas acima, porém com hiperplasia marginal da camada do manto mais acentuada. Às vezes os folículos se fundiram. Não houve congestão vascular.

Linfonodo mesentérico

No grupo-controle os folículos foram numerosos e com seus centros germinativos pequenos, contrastando com a zona medular vazada por sinusóides dilatados e contendo pequeno número de histiócitos. No subgrupo com oclusão foram observadas congestão

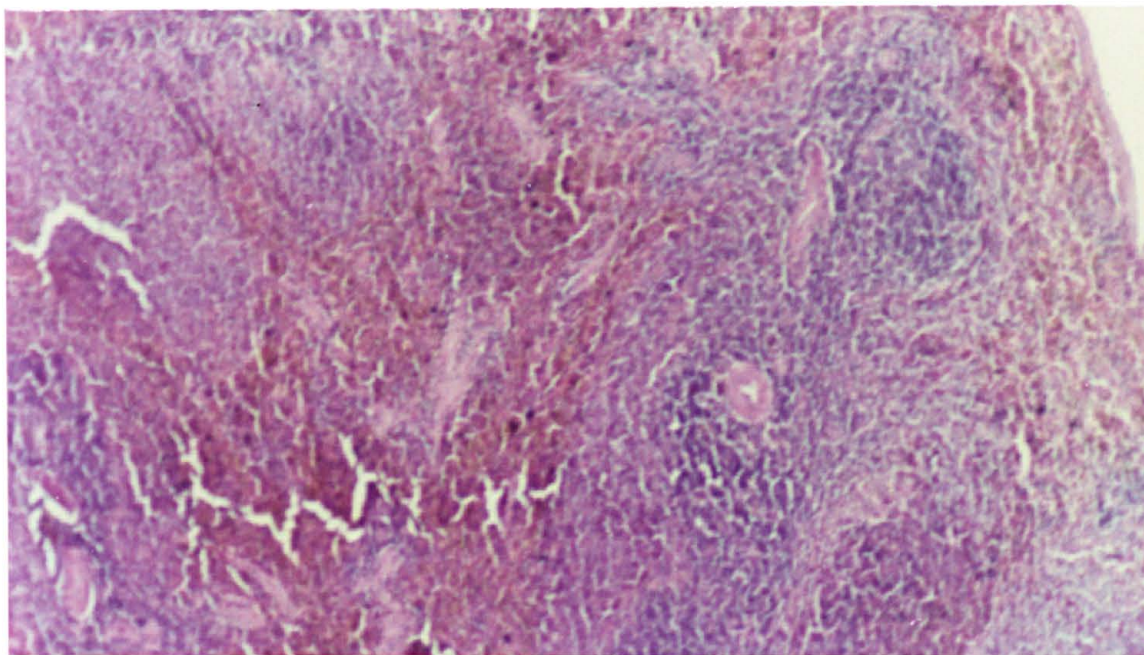


FIGURA 9. BAÇO DE RATO DO GRUPO-CONTROLE
Visão panorâmica demonstrando folículo com
camada do manto delgada (H.E. 63X).

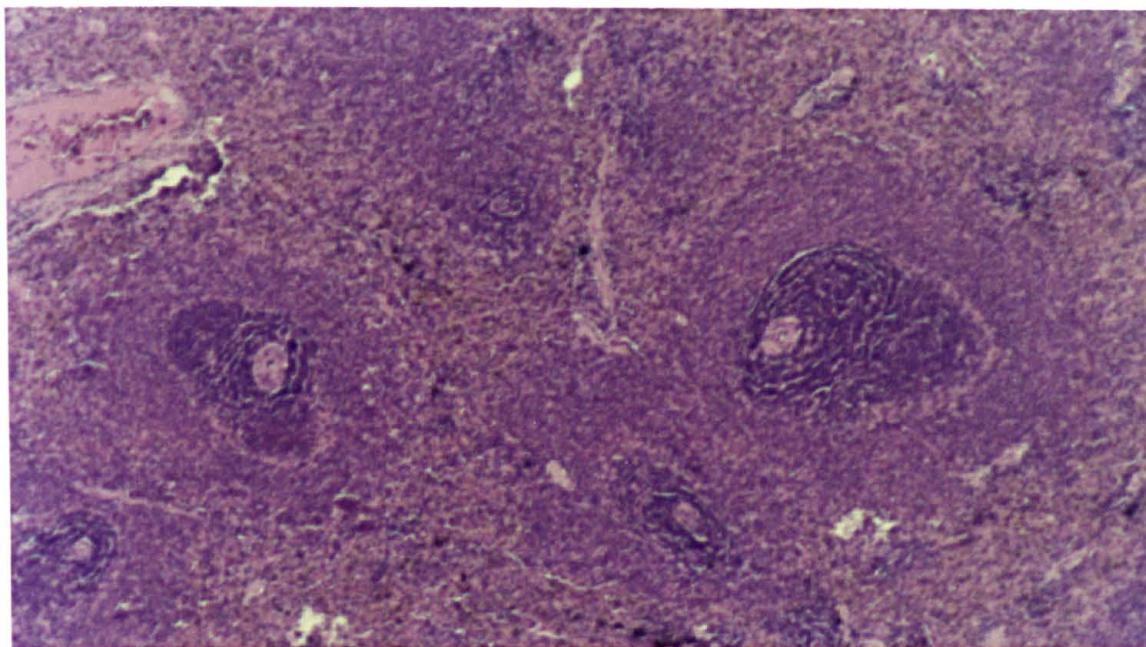


FIGURA 10. BAÇO DE RATO DO GRUPO PARENTERAL
Visão panorâmica demonstrando folículos com camada do
manto alargada por acentuada hiperplasia (H.E. 63X)

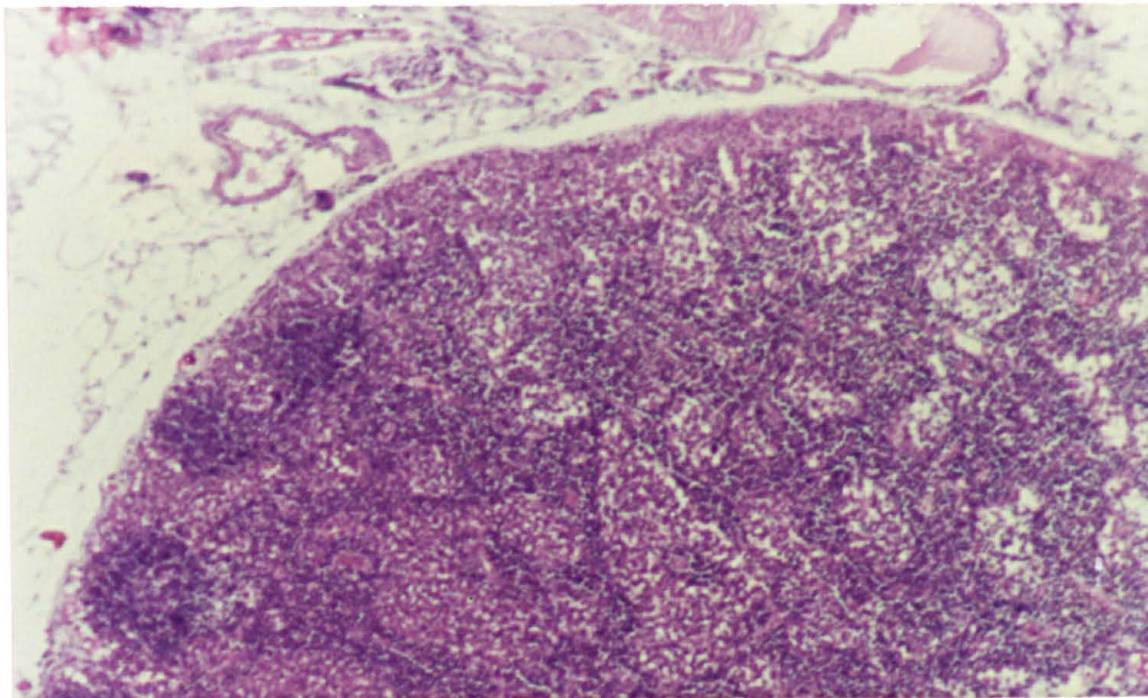


FIGURA 11. LINFONODO MESENTÉRICO DE RATO DO GRUPO-CONTROLE
Visão panorâmica demonstrando folículos com centros
germinativos pequenos, quase inaparentes (H.E. 63X)

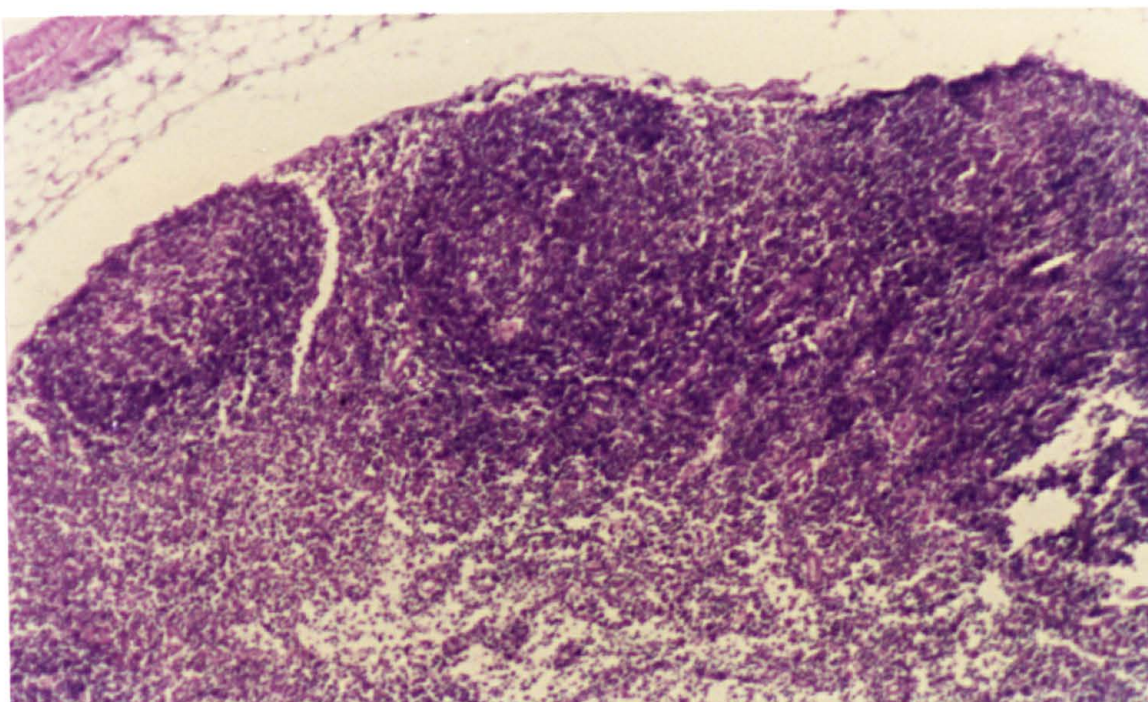


FIGURA 12. LINFONODO MESENTÉRICO DE RATO DO GRUPO
PARENTERAL
Visão panorâmica demonstrando acentuada hiperplasia dos
folículos linfóides (H.E. 63X).

medular e hiperplasia leve em 4 ratos. Os demais não apresentaram diferenças em relação aos controles sem oclusão.

No grupo parenteral foi observada hiperplasia e congestão da zona perifolicular, estendendo-se até à medular, ocupando os espaços dos histiócitos vistos nos controles. No subgrupo de ratos em nutrição parenteral com oclusão intestinal houve hiperplasia difusa e perifolicular, com a presença de linfócitos grandes. A zona medular esteve ocupada por idêntica hiperplasia difusa.

Foram utilizadas colorações especiais com o intuito de visualizarem-se bactérias no fígado, baço e linfonodos mesentéricos, e em nenhum órgão dos grupos estudados foram identificadas bactérias.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Com o advento da nutrição parenteral, no final da década de 60, abriu-se nova perspectiva para o tratamento de pacientes nos quais a via oral estava contra-indicada ou era insuficiente para a manutenção do estado nutricional. Hoje é possível manterem-se pacientes por períodos prolongados, talvez por toda a vida, exclusivamente com a nutrição parenteral e as indicações desta modalidade terapêutica incluem atualmente as mais variadas áreas da medicina ^{66,67}.

Entretanto, apesar de a nutrição parenteral ser um meio efetivo de manutenção do estado nutricional, a falta crônica de nutrientes na luz intestinal leva a alterações atróficas do intestino. Dentre as potenciais conseqüências da atrofia intestinal está o escape de bactérias da luz intestinal para a circulação sistêmica e os órgãos abdominais, no fenômeno que se conhece por translocação bacteriana. Desta forma, o intestino funcionaria como reservatório e fonte de patógenos em determinadas situações clínicas ²².

O peso corporal inicial e final, bem como a variação do peso corporal foram semelhantes nos ratos-controle e naqueles mantidos em nutrição parenteral, demonstrando que o modelo empregado foi efetivo em manter o estado nutricional durante o período de sete dias do estudo. Entretanto, o peso da mucosa intestinal e o seu conteúdo de proteína total, DNA e RNA foram menores no grupo parenteral em relação aos ratos do grupo-

controle. Essas diferenças foram estatisticamente significativas com relação ao peso da mucosa e ao conteúdo de RNA.

Em modelo semelhante, LEVINE et al relataram diminuição significativa do conteúdo protéico e do DNA da mucosa em relação aos ratos-controles ⁵⁸. HUGHES e DOWLING observaram, em ratos, redução significativa da massa intestinal já a partir do terceiro dia de nutrição parenteral ⁴⁷. JOHNSON et al relataram diminuição significativa do peso do intestino e do conteúdo de proteína total, de DNA e RNA em ratos mantidos em nutrição parenteral por períodos de 8 a 23 dias ⁵⁰.

Portanto, os resultados do presente trabalho corroboram outros dados da literatura que demonstram que a ingestão de alimentos por via oral é necessária para a manutenção do trofismo intestinal. É importante salientar-se que essas alterações ocorrem a despeito de o intestino continuar a receber saliva, bile e secreções gástricas e pancreáticas, ricas em proteínas. Mesmo a nutrição enteral monomérica, a despeito de conter nutrientes, induz a alterações atróficas da mucosa intestinal ³¹.

Alguns estudos recentes procuraram investigar maneiras de se evitar a atrofia intestinal decorrente da nutrição parenteral ou da nutrição enteral elementar. ECKNAUER et al demonstraram que a adição de celulose é capaz de diminuir a atrofia intestinal em ratos recebendo nutrição enteral elementar ³¹. HOSODA et al avaliaram as alterações funcionais

e estruturais do intestino de ratos em nutrição enteral ou parenteral, com ou sem a adição de fibra por via oral ⁴⁵. As alterações mais importantes ocorreram no grupo mantido em nutrição parenteral, nos quais foi observada intensa atrofia das vilosidades e diminuição da diamino-oxidase da mucosa intestinal. Os grupos de ratos que receberam suplementação da dieta com fibra apresentaram menor atrofia vilositária e não apresentaram alterações na concentração de diamina-oxidase na mucosa intestinal.

BURKE et al estudaram o efeito da suplementação da nutrição parenteral com glutamina a 2% ¹⁵. Os autores observaram redução de 50% da IgA-S biliar com nutrição parenteral. Com a suplementação com glutamina, os níveis da IgA-S biliar normalizaram-se. Em outro estudo, o mesmo grupo de investigadores observou aumento da população de células linfóides na lâmina própria intestinal quando a nutrição parenteral foi suplementada com glutamina ^{5,15}. Estes estudos sugerem que a glutamina é importante para a manutenção da função imunológica intestinal normal.

Outros autores também investigaram o papel da glutamina na manutenção do trofismo intestinal ^{85,89,91,100}. Recentemente, SOUBA et al demonstraram que a suplementação com 3% de glutamina reduziu de maneira significativa a ocorrência de translocação bacteriana após radioterapia em ratos ⁹⁰. No grupo-controle a incidência de translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos foi de 89%, e esta reduziu-se para 20%

nos ratos que receberam suplementação oral de glutamina. WILMORE et al demonstraram, em ratos recebendo glutamina a 2% aumento do conteúdo protéico e de DNA da mucosa em relação aos controles ¹⁰⁰.

As soluções comerciais de aminoácidos, como as utilizadas no presente estudo, não contém glutamina em sua composição. As concentrações de glutamina nas dietas utilizadas nos experimentos 1 e 2 não foram fornecidas pelos fabricantes, porém as fontes protéicas empregadas na composição das dietas possuem glutamina em sua composição em concentrações variadas. Desta forma, é possível que a falta de glutamina possa ter contribuído para as alterações atróficas observadas no intestino dos ratos do grupo parenteral em ambos os experimentos. Entretanto seriam necessárias determinações da concentração de glutamina na mucosa intestinal para comprovar esta possibilidade.

HUGHES et al estudaram a estrutura e função intestinais de cães recebendo nutrição parenteral por 6 semanas ⁴⁶. Um grupo de cães recebeu nutrição parenteral e o outro grupo nutrição parenteral mais suplementação com colecistoquinina e secretina por via endovenosa. À semelhança dos estudos anteriormente descritos empregando o rato como modelo experimental, o intestino dos cães mantidos em nutrição parenteral também exibiu importantes alterações atróficas. Entretanto, a administração endovenosa de colecistoquinina e secretina preveniu completamente a atrofia intestinal. Estes resultados

demonstram que é possível prevenirem-se as alterações atróficas decorrentes da nutrição parenteral com a administração de colecistoquinina e secretina. O mecanismo pelo qual a injeção endovenosa destes hormônios evita a atrofia intestinal é desconhecido. Este efeito trófico pode ser atribuído à colecistoquinina, à secretina, à combinação de ambos ou à estimulação bilio-pancreática resultante. Os ácidos graxos de cadeia curta são importante fonte calórica para os enterócitos e sua utilização enteral previne a atrofia intestinal em diversos modelos experimentais ¹⁶.

O mecanismo pelo qual a administração de nutrientes na luz intestinal previne a atrofia intestinal também não é conhecido. Aparentemente, a presença de nutrientes na luz intestinal estimula o sistema nervoso autônomo ou induz a liberação de algum fator sistêmico que mantém o trofismo intestinal. Esta conclusão baseia-se na constatação de que a infusão de nutrientes no intestino previne a atrofia mesmo de alça exclusiva do tipo Thiry-Vella ⁵.

Os dispositivos de infusão endovenosa empregados no experimento 2 - cateter, "swivel-joint", espiral e disco metálico - foram semelhantes aos utilizados no experimento 1. Entretanto, o modelo de nutrição parenteral em ratos teve que ser adaptado à gaiola metabólica de fabricação artesanal, e a efetividade destas adaptações foi demonstrada por MATIAS ⁶⁴. No presente experimento foi possível confirmar a eficácia do modelo empregado, pois não foram observados problemas com

relação ao aparato de infusão endovenosa contínua. As misturas nutritivas do tipo 3 em 1 foram bem toleradas pelos ratos e foram empregadas pela facilidade do manuseio e pela adequação do aporte calórico, onde um terço das calorias são ofertadas na forma de lipídios ¹⁸.

Os ratos do experimento 2 tiveram aporte calórico total maior do que os ratos do experimento 1 devido ao maior peso médio dos animais deste grupo. O aporte calórico total foi semelhante entre os grupos do experimento 2. Entretanto, o comportamento ao longo do tempo foi diferente. Os ratos alimentados por via oral exibiram menor ingestão de alimentos no primeiro dia do experimento, porém a ingestão calórica destes foi maior do que a infusão calórica do grupo parenteral a partir do quarto dia do experimento.

A menor ingestão calórica no primeiro dia deveu-se, provavelmente, ao trauma cirúrgico e anestésico. O aumento da ingestão calórica observado tem por objetivo a compensação calórica do déficit inicial. Este comportamento da ingestão calórica tem sido bem reproduzido em diversos modelos experimentais ^{39,52,68}. A infusão de nutrição parenteral isovolumétrica, porém com conteúdo protéico e calórico variável, influencia não só a quantidade mas também o comportamento alimentar do rato. Através do desenvolvimento de equipamento especial foi possível estudar-se o comportamento alimentar do rato submetido a diversas condições experimentais⁷⁰. Alteram-se o número, a quantidade de ração

ingerida e a duração de cada refeição ⁶⁸. A composição da solução nutritiva também afeta estes parâmetros ⁶⁹.

A excreção fecal refletiu claramente a ingestão oral. No grupo-controle ela aumentou progressivamente ao longo do experimento, em relação direta ao aumento da ingestão oral. Já no grupo parenteral, mantido em jejum, a excreção de fezes foi significativamente menor do que no grupo-controle durante todo o experimento e diminuiu progressivamente.

A ingestão hídrica foi maior no grupo-controle em relação ao grupo parenteral durante todo o experimento. A menor ingestão de água no grupo parenteral deveu-se, provavelmente, à grande infusão de líquidos por via endovenosa neste grupo (72 ml/24h). Este achado é corroborado pelo volume urinário, significativamente maior no grupo parenteral em relação ao grupo-controle durante todo o experimento.

Os pesos do fígado e do baço do grupo parenteral foram estatisticamente superiores aos pesos do grupo-controle, enquanto o intestino delgado apresentou redução ponderal com a nutrição parenteral. POPP et al relataram resultados semelhantes em ratos em nutrição parenteral por 21 dias ⁷⁵. O aumento do peso do baço foi atribuído à estimulação imunológica aumentada nos ratos recebendo nutrição parenteral, por mecanismo não bem elucidado. Congestão esplênica poderia também ser responsável pelo aumento ponderal do baço, mas os estudos histológicos demonstraram alterações mais sugestivas de hiperplasia linfóide do que de congestão vascular. Também foi

observado aumento do peso do linfonodo mesentérico, e este foi atribuído à maior estimulação imunológica dos ratos mantidos em nutrição parenteral.

WOLF e NEIMAN classificaram as proliferações não neoplásicas do tecido linfóide esplênico em doenças granulomatosas, ativação precoce e ativação evolutiva ¹⁰¹. Os achados histológicos do presente estudo são compatíveis com a ativação evolutiva. Este padrão é resultante de ativação imunológica crônica por antígenos presentes na corrente sanguínea. Caracteriza-se macroscopicamente por aumento importante do volume do baço. Microscopicamente, a principal característica é o grande aumento da zona marginal. Os achados dos estudos microscópios do baço e do linfonodo mesentérico do presente trabalho ainda não haviam sido relatados na literatura em ratos em nutrição parenteral.

A redução do peso do intestino delgado reflete a importante atrofia que ocorre no intestino desfuncionalizado durante a nutrição parenteral, como foi demonstrado no experimento 1 e nos estudos histológicos. Estes achados são semelhantes aos descritos para ratos desnutridos ⁸.

A nutrição parenteral tem sido associada, freqüentemente, a aumento do peso do fígado, modificações de sua composição bioquímica e alterações histológicas. Estas alterações são dependentes da quantidade e da qualidade dos nutrientes infundidos. CAMPOS et al demonstraram, em ratos mantidos em nutrição paranteral por apenas três dias, aumento significativo

das concentrações de triglicerídeos e de glicogênio hepático, sem modificações na concentração de nitrogênio hepático. Entretanto, estas alterações retornavam rapidamente ao normal com a interrupção da nutrição parenteral ¹⁷.

A redução do hematócrito e da glicemia com a nutrição parenteral observada neste estudo já foi relatada por outros autores. POPP et al atribuíram a redução do hematócrito a aumento da destruição ou redução da produção de hemácias ⁷⁵. Como o ferro e outros micronutrientes são importantes na hematopoiese ¹⁹, alguns autores estudaram a histologia da medula óssea e os níveis séricos de ferro em ratos recebendo nutrição parenteral, porém não foram capazes de elucidar as causas da anemia observada ³⁴. ENRIONE et al observaram os mesmos achados em ratos em nutrição parenteral e acreditam que possa ocorrer inibição da eritropoiese ou redução da vida média das hemácias, apesar de não oferecerem explicação para esses achados ³⁴. Os níveis séricos menores de glicemia nos ratos mantidos em nutrição parenteral também foram observados por POPP et al, porém os mecanismos envolvidos não foram elucidados ⁷⁵.

A albumina sérica manteve-se inalterada com a nutrição parenteral durante o período do estudo. Estes dados, associados ao ganho de peso, corroboram a efetividade da nutrição parenteral em manter o estado nutricional dos ratos durante os sete dias do experimento. No estudo de POPP et al, a albumina sérica não variou de maneira significativa durante os vinte e

um dias do estudo ⁷⁵.

O aumento da contagem leucocitária e linfocitária observado neste estudo deveu-se, provavelmente, à maior estimulação imunológica dos ratos em nutrição parenteral. Achados semelhantes foram relatados por POPP et al ⁷⁵. É provável que a presença do cateter endovenoso e a infusão de nutrição parenteral tenham contribuído para a maior estimulação antigênica dos ratos do grupo parenteral.

As culturas de jejuno foram avaliadas em conjunto e para cada subgrupo em separado. A comparação do grupo parenteral com o grupo controle demonstrou não haver diferença significativa entre eles. A análise de cada subgrupo em separado também não demonstrou diferença significativa entre eles, embora o subgrupo de ratos recebendo nutrição parenteral com oclusão intestinal tenha valores cerca de 50% acima dos demais.

A contagem bacteriana no jejuno dos ratos do presente experimento foram menores do que as relatadas no íleo e no ceco em outros experimentos. Entretanto, a predominância absoluta de *E.coli*, seguida de *Klebsiella sp* e *Proteus mirabilis*, neste estudo, é semelhante à relatada por outros autores ²⁵.

A contagem absoluta de bactérias parece ser importante na incidência de translocação bacteriana. Estudos mais recentes têm destacado que raramente ocorre translocação em ratos com contagem bacteriana inferior a 10^8 UFC/g no ceco. No presente experimento, não foram incluídas contagens bacterianas no ceco, porque o interesse primário foi observar as alterações no

jejuno proximal decorrentes da nutrição parenteral e da oclusão intestinal, o que impossibilita a comparação dos resultados da contagem bacteriana com outros trabalhos. Entretanto, à semelhança de outros trabalhos, a ligadura do íleo terminal não resultou em aumento significativo da contagem bacteriana no período de doze horas de oclusão estudado. DEITCH et al relataram aumento significativo da contagem bacteriana no íleo apenas quarenta e oito horas após a oclusão intestinal em camundongos ²⁵.

Translocação bacteriana ocorreu em 18,75% dos ratos do grupo que recebeu nutrição parenteral e não ocorreu em nenhum rato do grupo-controle. Esta incidência de translocação bacteriana é menor do que a relatada por ALVERDY et al ⁶. Naquele estudo, os autores relataram translocação bacteriana em 66,6% dos casos, porém os ratos foram mantidos em nutrição parenteral por quatorze dias, enquanto no presente estudo os ratos receberam nutrição parenteral por sete dias. No estudo de ALVERDY et al também foi relatado aumento significativo da contagem bacteriana no ceco dos ratos que receberam nutrição parenteral em relação aos controles ⁶. No presente estudo, não houve aumento na contagem bacteriana do jejuno nos ratos que receberam nutrição parenteral por sete dias.

Os três ratos do presente estudo que apresentaram translocação bacteriana tiveram as culturas positivas no baço. Todas as culturas dos linfonodos mesentéricos foram negativas. ALEXANDER et al, em modelo de trauma térmico em ratos que

receberam bactérias marcadas por via oral, demonstraram maior incidência de translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico, seguido do baço, fígado e pulmões ³. Entretanto, 99% das bactérias presentes no linfonodo mesentérico estavam inviáveis, demonstrando grande eficiência dos linfonodos mesentéricos em destruir as bactérias translocadas. Como as culturas negativas dos linfonodos mesentéricos do presente estudo poderiam ser conseqüentes ao fato de as bactérias estarem inviáveis nos linfonodos, esta possibilidade foi afastada através da utilização de colorações específicas para a detecção de bactérias nos órgãos estudados. Os exames histológicos dos órgãos estudados corados desta maneira não identificaram bactérias.

A oclusão intestinal foi utilizada neste experimento como fator de agressão para avaliar se o intestino atrófico resultante da nutrição parenteral estaria mais susceptível à ocorrência de translocação bacteriana. Este modelo foi escolhido porque a obstrução intestinal causa alterações na motilidade, absorção e secreção do intestino ⁷⁷. A relevância destas alterações estende-se teoricamente também ao íleo adinâmico, comum no período pós-operatório e em pacientes mantidos em nutrição parenteral ³³.

Não foi observado aumento da contagem bacteriana com a oclusão de doze horas, e a incidência de translocação bacteriana foi semelhante entre os ratos com e sem oclusão intestinal. Provavelmente, não foi demonstrado aumento da

translocação bacteriana com a oclusão intestinal por doze horas porque esta não resultou em aumento da contagem bacteriana do jejuno no período estudado. Foi demonstrado que as alterações secundárias à obstrução intestinal devem-se basicamente à superpopulação bacteriana decorrente, pois tais alterações não são encontradas em modelos de oclusão intestinal em animais livres de germes ⁴⁴. No estudo de DEITCH et al, a translocação bacteriana ocorreu em 27% dos camundongos submetidos a oclusão intestinal por períodos de apenas seis horas e em 58% dos animais com oclusão intestinal por mais de doze horas ²⁵.

A análise da translocação bacteriana por subgrupos revelou 25% de ocorrência de translocação bacteriana no subgrupo de ratos que recebeu nutrição parenteral e foi submetido a oclusão intestinal. Este achado sugere que as alterações atróficas que ocorreram no jejuno e que foram demonstradas no experimento 1 e nos estudos histológicos do experimento 2 tornaram os ratos deste subgrupo mais susceptíveis à agressão representada pela oclusão intestinal e, conseqüentemente, apresentaram maior incidência de translocação bacteriana. Em contraste, os ratos alimentados por via oral suportaram bem o período de doze horas de oclusão intestinal e não foi demonstrada translocação bacteriana neste subgrupo.

Poucos estudos na literatura até o momento investigaram a ocorrência de translocação bacteriana no homem, e a sua relevância clínica ainda não foi determinada. AMBROSE et al investigaram a incidência de bactérias patogênicas nos

linfonodos mesentéricos de pacientes operados por doença de Crohn ⁷. Foram encontradas bactérias patogênicas em 27% dos pacientes operados por doença de Crohn e em 15% dos pacientes operados por outras causas. Os autores sugerem que a translocação de patógenos para os linfonodos mesentéricos na doença de Crohn possa ser importante na patogênese dos abscessos e fístulas que são freqüentes nestes pacientes.

TANCRÈDE e ANDREMONT analisaram culturas de fezes e de sangue de 680 pacientes com neoplasias malignas ⁹⁴. Destes, 55 apresentaram, durante o tratamento, bacteremias por germes gram-negativos. Em 82% dos casos em que ocorreu bacteremia houve coincidência do germe isolado nas hemoculturas e nas coproculturas. Os microorganismos mais freqüentemente encontrados foram *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os episódios de translocação bacteriana deste estudo ocorreram a despeito de não ter havido aumento na contagem destas bactérias nas coproculturas.

DEITCH realizou culturas de linfonodos mesentéricos de 42 pacientes operados por oclusão intestinal e comparou os resultados com um grupo de 25 pacientes operados por outros motivos ²¹. Dentre os pacientes com oclusão intestinal, em 59% deles as culturas dos linfonodos mesentéricos foram positivas. Em contraste, apenas 4% dos pacientes operados por outras causas tiveram culturas de linfonodos positivas. A bactéria mais freqüentemente isolada foi a *E. coli*. Nenhum destes pacientes apresentava sinais clínicos de infecção.

RUSH et al realizaram hemoculturas de pacientes admitidos ao hospital por trauma severo ⁷⁸. De 18 pacientes com pressão arterial sistólica na admissão abaixo de 80 mmHg, em 10 as hemoculturas foram positivas (56%). Em contraste, de 25 pacientes admitidos com pressão arterial sistólica acima de 110 mmHg, apenas 1 apresentou hemocultura positiva. Os autores atribuem a alta incidência de bacteremia precoce dos pacientes com choque hemorrágico à combinação da imunodepressão característica do trauma e a isquemia intestinal. A combinação destes fatores levaria à instalação do quadro séptico que freqüentemente acompanha o trauma severo.

Recentemente, KURKCHUBASCHE et al avaliaram a incidência de infecção do cateter em 20 pacientes pediátricos portadores de síndrome do intestino curto e recebendo nutrição parenteral⁵⁴. Os microorganismos obtidos nas culturas de cateter foram comparados com coproculturas colhidas simultaneamente. Houve maior incidência de infecção do cateter nos pacientes com síndrome do intestino curto em relação aos pacientes em nutrição parenteral por outras causas. Enterobactérias foram as responsáveis por 62% dos casos de infecção do cateter no grupo de pacientes com síndrome do intestino curto e em apenas 12% dos pacientes com outros diagnósticos. O microorganismo responsável pela sepse foi identificado nas coproculturas de 19 dos 28 casos de infecção de cateter estudados.

Os resultados do presente estudo demonstram que a não

utilização do intestino, como o que ocorre durante a nutrição parenteral, promove alterações atróficas importantes no órgão e predispõe à ocorrência de translocação bacteriana frente a um fator agressor, como a oclusão intestinal. Este achado é um importante argumento para que se recomende, sempre que possível, a utilização da via enteral para a administração de nutrientes.

Alguns estudos clínicos demonstraram redução dos quadros infecciosos quando o intestino foi utilizado para a administração de nutrição enteral. BORDER et al demonstraram redução da magnitude dos estados sépticos e do número total de hemoculturas positivas em pacientes em unidade de terapia intensiva que receberam nutrição enteral, em relação aos pacientes nos quais o intestino não foi utilizado ¹¹. MOORE et al demonstraram, em pacientes que sofreram trauma abdominal severo, redução das complicações infecciosas de 20 para 3% nos pacientes que utilizaram nutrição enteral, em relação aos pacientes que receberam nutrição parenteral ⁷². ALEXANDER et al relataram redução do número de episódios de bacteremia e melhor sobrevida, além de melhora de diversos parâmetros imunológicos, com a utilização de nutrição enteral precoce em crianças que sofreram queimaduras extensas ⁴. Outros estudos demonstraram a eficácia da descontaminação intestinal seletiva na prevenção das infecções sistêmicas em diversas situações clínicas com risco potencial de translocação bacteriana, como após queimaduras extensas ⁴⁹ e em pacientes granulocitopênicos ⁴¹.

O significado clínico da translocação bacteriana vai depender da virulência do microorganismo e da integridade dos mecanismos imunológicos de defesa do hospedeiro ²⁰. Em pacientes hígidos, a translocação bacteriana pode ser um fenômeno comum e sem maiores conseqüências clínicas. É possível que seja inclusive benéfica e necessária para permitir o contacto do indivíduo com microorganismos ou outros antígenos e, desta forma, suscitar a formação de anticorpos ³². A imunização com vacinas orais é um exemplo. Entretanto, em pacientes imunodeprimidos, como os pacientes com câncer recebendo rádio ou quimioterapia, vítimas de trauma ou queimaduras extensas e, em especial, os pacientes cirúrgicos graves mantidos em nutrição parenteral, o intestino pode tornar-se importante fonte de microorganismos patogênicos ou de suas toxinas ^{20,63,79}.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

A análise dos resultados do presente estudo permite chegar-se às seguintes conclusões:

1. O modelo experimental utilizado de ratos em nutrição parenteral por 7 dias é efetivo em manter o peso corporal e a albuminemia dos animais durante o período do estudo.

2. Ratos em nutrição parenteral por 7 dias apresentam redução do peso da mucosa do intestino delgado e do conteúdo de RNA da mucosa jejunal.

3. Os pesos do fígado, baço e linfonodo mesentérico aumentam em ratos recebendo nutrição parenteral por 7 dias, enquanto o peso do intestino delgado diminui em relação aos animais controles.

4. Histologicamente, o jejuno apresenta alterações atróficas moderadas, com encurtamento vilositário e aumento relativo das criptas. O fígado apresenta vacuolização periportal moderada, o baço apresenta hiperplasia da camada do manto e os linfonodos mesentéricos exibem hiperplasia difusa e da zona perifolicular.

5. Ocorre redução da glicemia e da concentração de hemoglobina com a nutrição parenteral em ratos por 7 dias. A contagem de leucócitos e de linfócitos aumenta neste modelo experimental.

6. A contagem bacteriana no jejuno de ratos não se modifica significativamente após 7 dias de nutrição parenteral, nem após oclusão intestinal de 12 horas e nem pela associação de ambas.

7. Translocação bacteriana não ocorre, em ratos, espontaneamente ou após oclusão intestinal de 12 horas.

8. Translocação bacteriana pode ocorrer em ratos recebendo nutrição parenteral por 7 dias com ou sem oclusão intestinal.

7. ANEXOS

TABELA A-1. INGESTÃO DE CALORIAS DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 (kcal/24h)

DIA	Controle* (média±EP)	NP** (média±EP)	P
1	46.71±7.82	66.12±0.68	0,026
2	73.86±9.07	71.75±0,46	0,820
3	65.97±6.00	70.94±0.83	0,424
4	84.36±3.40	72.12±1.22	0,004
5	82.08±2.88	71.12±0.83	0,002
6	85.40±2.82	71.87±0.68	<0,001

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

* As médias do grupo-controle aumentam com o tempo (p=0,002)

** As médias do grupo NP aumentam com o tempo (p<0,001)

TABELA A-2. INGESTÃO DE ÁGUA DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 (ml/24h)

DIA	Controle* (média±EP)	NP** (média±EP)	P
1	34.36±3.42	9.47±2.61	<0,001
2	42.11±4.08	7.61±1.75	<0,001
3	40.85±3.88	8.57±2.12	<0,001
4	46.96±2.29	5.97±0.94	<0,001
5	45.56±2.40	7.76±1.59	<0,001
6	45.16±2.47	6.94±0.99	<0,001

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

* As médias do grupo-controle aumentam com o tempo (p=0,007)

** As médias do grupo NP não variam com o tempo (p=0,662)

TABELA A-3. EXCREÇÃO DE FEZES DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 (g/24h)

DIA	Controle* (média±EP)	NP** (média±EP)	P
1	7.94±1.34	2.36±0.22	<0,001
2	12.20±1.91	0.76±0.16	<0,001
3	13.37±1.17	0.58±0.08	<0,001
4	17.52±1.28	0.22±0.05	<0,001
5	16.64±1.11	0.32±0.05	<0,001
6	16.98±1.31	0.34±0.06	<0,001

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

* Houve aumento nas médias obtidas no grupo-controle ao longo do tempo (p<0,001).

** Houve diminuição nas médias do grupo NP ao longo do tempo (p<0,001)

TABELA A-4. VOLUME URINÁRIO DOS RATOS DO EXPERIMENTO 2 (ml/24h)

DIA	Controle (média±EP)	NP (média±EP)	P
1	9.57±0.96	46.94±1.80	<0,000
2	13.76±2.36	48.74±2.12	<0,000
3	12.57±1.85	48.68±2.63	<0,000
4	13.57±1.49	46.64±2.49	<0,000
5	14.00±1.70	44.10±3.97	<0,000
6	15.68±1.83	46.81±3.25	<0,000

EP= erro padrão

NP= grupo nutrição parenteral

* As médias dos 2 grupos não variaram significativamente ao longo do tempo (p= 0,186).

** Os dois grupos tiveram comportamento similar ao longo do tempo

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.F.I.P. **Manual of histologic and special staining technics**. 2 ed. New York : McGraw-Hill, 1960.
2. ALEXANDER, J.W.; BOYCE, S.T.; BABCOCK, G.F.; et al. The process of microbial translocation. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 212, p. 496-512, 1990.
3. ALEXANDER, J.W.; BOYCE, S.T.; BABCOCK, G.F.; et al. The process of microbial translocation. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 212, p. 496-512, 1990.
4. ALEXANDER, J.W. ; MACMILLAN, B.G.; STINNETT, J.D.; et al. Beneficial effects of aggressive protein feeding in severely burned children. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 192, p. 505-517, 1980.
5. ALVERDY, J. C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v.14, suppl, p. 109S-113S, 1990.
6. ALVERDY, J.C., AOYS, E.; MOSS, G.S. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. **Surgery**, St Louis, v. 104, p. 185-190, 1988.
7. AMBROSE, N.S.; JOHNSON, M.; BURDON, D.W.; KEIGHLEY, M.R. Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. **Br J Surg**, London, v. 71, p. 623-625, 1984.
8. AMORIM, C.S.C. **Estudo morfológico da mucosa intestinal de ratos submetidos à desnutrição protéico-calórica experimental**. Tese (Doutor em Ciências) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1984.
9. BERG, R.D.; GARLINGTON, A.W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. **Infec Immun**, Washington, v. 23, p. 403-411, 1979.
10. BLAZEVIC, D.J.; EDERER, G.M. Principles of biochemical tests. In _____ (Ed.). **Diagnostic microbiology**. New York : Wiley Medical, 1975. p. 134.
11. BORDER, J.R.; HASSETT, J.; LADUCA, J.; et al. The gut origin septic sates in blunt trauma (ISS= 40) in the ICU. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 206, p. 427-448, 1987.

12. BRANDTZAEG, P.; HALSTENSEN, T.S.; KETT, K.; et al. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 97, p. 1562-1584, 1989.
13. BROWN, W.R. Relationships between immunoglobulins and the intestinal epithelium. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 75, p. 129-138, 1978.
14. BROWN, W.R.; NEWCOMB, R.W.; ISHIZAKA, K. Proteolytic degradation of exocrine and serum immunoglobulins. **J Clin Invest**, New York, v. 49, p.1374-1380, 1970.
15. BURKE, D.J.; ALVERDY, J.C.; AOYS, E.; et al. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. **Arch Surg**, Chicago, v. 124, p. 1396-1399, 1989.
16. CAMPOS, A.C.L.; MEGUID, M.M. Short chain fatty acids. Present prospects: future alternative?. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v. 12, p. 51-54, 1988.
17. CAMPOS, A.C.L.; OLER, A.; MEGUID, M.M.; CHEN, T.Y. Biochemical and morphological changes of the liver with graded amounts of parenteral nutrition. **Arch Surg**, Chicago, v. 125, p. 447-450, 1990.
18. CAMPOS, A.C.L.; PALUZZI, M.; MEGUID, M.M. Clinical use of total nutrition admixtures. **Nutrition**, Syracuse, v. 6, p. 347-356, 1990.
19. CAMPOS, A.C.L.; SOUZA, F.J.; MARCHESINI, J.B.; MALAFAIA, O.; BRENNER, S. Nutrição e hematopoiese. **Rev Méd Par**, Curitiba, v. 43, p. 88-91, 1985.
20. DEITCH, E.A. Bacterial translocation: is it of clinical significance? **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 98, p. 243-244, 1990.
21. _____. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. **Arch Surg**, Chicago, v.124, p. 699-701, 1989.
22. _____. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. **Arch Surg**, Chicago, v. 125, p. 403-404, 1990.

23. DEITCH, E.A. ; BERG, R.D. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation of the gut flora in burned mice. *J Trauma*, Baltimore, v. 27, p.161-166, 1987.
24. DEITCH, E.A.; BERG, R.; SPECIAN, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg*, Chicago, v. 122, p. 185-190, 1987.
25. DEITCH, E.A.; BRIDGES, W.M.; MA, J.W.; MA, L.; BERG, R.D.; SPECIAN, R.D. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. *Am J Surg*, Newton, v. 159, p. 394-401, 1990.
26. DEITCH, E.A.; MAEJIMA, K.; BERG, R. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the traslocation of the GI tract microflora in burned rats. *J Trauma*, Baltimore, v. 25, p.385-392, 1985.
27. DEITCH, E.A.; SITTING, K.; LI, M.; BERG, R.; SPECIAN, R.D. Obstructed jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg*, Newton, v. 159, p. 79-84, 1990.
28. DEITCH, E.A.; WINTERTON, J.; BERG, R. Effect of starvation, malnutrition, and trauma on the gastrointestinal tract flora and bacterial translocation. *Arch Surg*, Chicago, v. 122, p. 1019-1024, 1987.
29. DEITCH, E.A.; WINTERTON, J.; LI, M.; BERG, R. The gut as a portal of entry for bacteremia: role of protein malnutrition. *Ann Surg*, Philadelphia, v. 205, p. 681-692, 1987.
30. DOBBINS, W.O. Gut immunophysiology: a gastroenterologist's view with emphasis on pathophysiology. *Am J Physiol*, Bethesda, v. 242, p. G1-G8, 1982.
31. ECKNAUER, R.; SIRCAR, B.; JOHNSON, L.R. Effect of dietary bulk on small intestinal morphology and cell renewal in the rat. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 81, p. 781-786, 1981.
32. EDMISTON, C.E.; CONDON, R.E. Bacterial translocation. *Surg Gynecol Obstet*, Chicago, v. 173, p. 73-83, 1991.

33. ENOCHSSON, L.; NYLANDER, G.; OHMAN, V. Effects of intraluminal pressure on regional blood flow in obstructed and unobstructed small intestine in the rat. **Am J Surg**, Newton, v. 144, p. 558-561, 1982.
34. ENRIONE, E.B.; MORRÉ, D.M.; BLACK, C.D. Carcass and organ composition of rats fed high fat total parenteral nutrition. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v. 11, p. 152-158, 1987.
35. FLECK, A.; MUNRO, H.N. The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmitt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation. **Biochim Biophys Acta**, Amsterdam, v. 55, p. 571-573, 1962.
36. FRY, W.J. Vascular prosthesis infection. **Surg Clin North Am**, Philadelphia, v. 52, p.1419-1424, 1972.
37. FUBARA, E.S.; FRETTER, R. Protection against enteric bacterial infection by secretory IgA antibodies. **J Immunol**, Baltimore, v. 111, p. 395-403, 1973.
38. GILES, K.W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for estimation of DNA. **Nature**, London, v. 206, p. 93, 1965.
39. GINER, M.; KAWASHIMA, Y.; CAMPOS, A.C.L.; MEGUID, M.M. Influence of parenteral feeding on spontaneous caloric intake and food selection in rats. **J Am Coll Nutr**, New York, v. 11, p. 232-236, 1992.
40. GRANGER, D.N.; BARROWMAN, J.A.; KVIETYS, P.R. (Ed.) **Clinical gastrointestinal physiology**. Philadelphia : WB Saunders, 1985, p. 43-44.
41. GUALTIERI, R.J.; DONOWITZ, G.R.; KAISER, D.L.; HESS, C.E.; SANDE, M.A. Double-blind randomized study of prophylactic trimethoprim / sulfamethoxazole in granulocytopenic patients with hematologic malignancies. **Am J Med**, Newton, v. 74, p. 934-940, 1983.
42. HABAUER, S.B.; KRAFT, S.C. Intestinal immunology. In: HAUBRICH, W.S.; KALSER, M.H.; ROTH, J.L.; et al (Ed.) **Gastroenterology**. 4 ed. Philadelphia : WB Saunders, 1985, 1607-1631.
43. HANSON, L.A.; AHLSTEDT, S.; CARLSSON, B.; et al. Secretory IgA antibodies to enterobacterial virulence antigens: their induction and possible relevance. **Adv Exp Med Biol**, New York, v. 107, p. 165-176, 1978.

44. HENEGHAN, J.B.; ROBINSON, J.W.; MENGE, H.; WINISTORDER, B. Intestinal obstruction in germ free dogs. **Eur J Clin Invest**, Oxford, v. 11, p. 285-290, 1981.
45. HOSODA, N.; NISHI, M.; NAKAGAWA, M.; HIRAMATSU, Y.; HIOKI, K.; YAMAMOTO, M. Structural and functional alterations in the gut of parenterally or enterally fed rats. **J Surg Res**, New York, v. 47, p. 129-133, 1989.
46. HUGHES, C.A.; BATES, T.; DOWLING, R.H. Cholecystokinin and secretin prevent the intestinal mucosal hypoplasia of total parenteral nutrition in the dog. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 75, p. 34-41, 1978.
47. HUGHES, C.A.; DOWLING, R.H. Speed of onset of adaptive mucosal hypoplasia and hypofunction in the intestine of parenterally fed rats. **Clin Sci**, Colchester, v. 59, p. 317-327, 1980.
48. IRIYAMA, K.; NISHIWAKI, H.; ASAMI, H.; KIHATA, M.; HIOSHI, T.; ASAKAWA, T. Effects of total parenteral nutrition on the development of intestinal endotoxemia in rats: A comparison between glucose and lipid. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v. 10, p. 413-415, 1986.
49. JARRETT, F.; BALISH, E.; MOYLAN, JA; ELLERBE, S. Clinical experience with prophylactic antibiotic bowel suppression in burn patients. **Surgery**, St Louis, v. 83, p. 523-527, 1978.
50. JOHNSON, L.R.; COPELAND, E.M.; DUDRICK, S.T.; LICHTENBERGER, L.M.; CASTRO, G.A. Structural and hormonal alterations in the gastrointestinal tract of parenterally fed rats. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 68, p. 1177-1183, 1975.
51. KENNEDY, M.J.; VOLZ, P.A. Ecology of *Candida albicans* gut colonization. Inhibition of *Candida* adhesion, colonization and dissemination from the gastrointestinal tract by bacterial antagonism. **Infect Immun**, Washington, v. 49, p. 654-663, 1985.
52. KUBOTA, A.; MEGUID, M.M.; CAMPOS, A.C.; CHEN, T.Y.; HITCH, D. Effect of intravenous branched chain amino acid on eating behavior and brain biogenic amine levels of rats. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v. 575, p. 541-542, 1989.

53. KUDSK, K.A.; CARPENTER, G.; PETERSEN, S.; SHELDON, G.F. Effect of enteral and parenteral feeding in malnourished rats with *E.coli*-hemoglobin adjuvant peritonitis. **J Surg Res**, New York, v. 31, p. 105-110, 1981.
54. KURKCHUBASCHE, A.G.; SMITH, S.D.; ROWE, M.I. Catheter sepsis in short bowel syndrome. **Arch Surg**, Chicago, v.127, p. 21-25, 1992.
55. LANGKAMP-HENKEN, B.; GLEZER, J.A.; KUDSK, K.A. Immunologic structure and function of the gastrointestinal tract. **Nutr Clin Pract**, Baltimore, v. 7, p. 100-108, 1992.
56. LeFEVRE, M.E.; OLIVO, R.; VANDERHOFF, J.W.; JOEL, D.D. Accumulation of latex in Peyer's patches and its subsequent appearance in villi and mesenteric lymph nodes. **Proc Soc Exp Biol Med**, New York, v. 159, p. 298-302, 1978.
57. LENNETTE, E.H. Medios de cultura. In: _____, (Ed.) **Microbiología clínica**. 3 ed. Buenos Aires : Medica Panamericana, 1982 , p. 1158-1237.
58. LEVINE, G.M.; DEREN, J.J.; STEIGER, E.; ZINNO, R. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 67, p. 975-982, 1974.
59. LOBOS, H.; MORENO, J.G. **Procedimientos y tecnicas de laboratorio**. Santiago : Editorial Universitaria, 1983. v.3, p. 185.
60. LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 193, p. 265, 1951.
61. MADDAUS, M.A.; WELLS, C.L.; SIMMONS, R.L. Role of cell-mediated immunity in preventing the translocation of intestinal bacteria. **Surg Forum**, v. 37, p. 107-109, 1986.
62. MAEJIMA, K.; DEITCH, E.A.; BERG, R. Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tract of mice. **Arch Surg**, Chicago, v. 119, p. 166-172, 1984.

63. MARSHALL, J.C.; CHRISTOU, N.V.; HORN, R.; MEAKINS, J.L. The microbiology of multiple organ failure: the proximal gastrointestinal tract as a reservoir of pathogens. *Arch Surg*, Chicago, v. 123, p. 309-315, 1988.
64. MATIAS, J.E.F. **Modelo experimental de nutrição parenteral em ratos**. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 1991.
65. McMANUS, J.P.; ISSELBACHER, K.J. Effect of fasting versus feeding on the rat small intestine: morphological, biochemical, and functional differences. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 59, p. 214-221, 1970.
66. MEGUID, M.M.; CAMPOS, A.C.L.; HAMMOND, W.G. Nutrition support in surgical practice. Current knowledge and research needs. Part I. *Am J Surg*, Newton, v. 159, p. 345-358, 1990.
67. _____. Nutrition support in surgical practice. Current knowledge and research needs. Part II. *Am J Surg*, Newton, v. 159, p. 427-443, 1990.
68. MEGUID, M.M.; CHEN, T.Y.; YANG, Z.J.; CAMPOS, A.C.L.; HITCH, D.C.; GLEASON, J.R. Effects of continuous graded total parenteral nutrition on feeding indexes and metabolic concomitants in rats. *Am J Physiol*, Bethesda, v.260, p. E126-E140, 1991.
69. MEGUID, M.M.; KAWASHIMA, Y.; CAMPOS, A.C. Effect of intravenous glucose load on food intake and brain bioamine levels. *Ann N Y Acad Sci*, New York, v. 575, p. 550-552, 1989.
70. MEGUID, M.M.; KAWASHIMA, Y.; CAMPOS, A.C.L.; et al. Automated computerized rat eater-meter: description and application. *Physiol Behav*, Elmsford, v. 48, p. 759-763, 1990.
71. MENZIES, I.S.; POUNDER, R.; SUKHA, H.; et al. Abnormal intestinal permeability to sugars in villous atrophy. *Lancet*, London, v. 2, p. 1107-1109, 1979.
72. MOORE, F.A.; MOORE, E.E.; JONES, T.N.; McCROSLEY, B.L.; PETERSON, V.M. TEN versus TPN following major abdominal trauma. Reduced septic morbidity. *J Trauma*, Baltimore, v. 29, p. 916-922, 1989.

73. MORA, E.M.; CARDONA, M.A.; SIMMONS, R.L. Enteric bacteria and ingested inert particles translocate to intraperitoneal prosthetic materials. **Arch Surg**, Chicago, v.126, p. 157-163, 1991.
74. N.I.I.A./EMBRAPA. **Software Científico-SOC**, Campinas, 1989.
75. POPP, M.B.; MORRISON, S.D.; BRENNAN, M.F. Growth and body composition during long term parenteral nutrition in the rat. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 36, p. 1119-1128, 1982.
76. REDAN, J.A.; RUSH, B.F.; LYSZ, T.W.; SMITH, S.; MACHIEDO, G.W. Organ distribution of gut-derived bacteria caused by bowel manipulation or ischemia. **Am J Surg**, Newton, v. 159, p. 85-90, 1990.
77. ROSCHER, R.; OETTINGER, W.; BEGER, H.G. Bacterial microflora, endogenous endotoxin and prostaglandins in small bowel obstruction. **Am J Surg**, Newton, v. 155, p. 348-355, 1988.
78. RUSH, B.F.; SORI, A.J.; MURPHY, T.F.; et al. Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock. The link between trauma and sepsis? **Ann Surg**, Philadelphia, v. 207, p. 549-554, 1988.
79. SAADIA, R.; SCHEIN, M.; McFARLANE, C.; BOFFARD, K.D. Gut barrier function and the surgeon. **Br J Surg**, London, v. 77, p. 487-492, 1990.
80. SCHATTEEN, W.E.; DESPREZ, J.D.; HOLDEN, W.D. A bacteriological study of portal-vein blood in man. **Arch Surg**, Chicago, v.71, p. 404-409, 1955.
81. SCHWEINBERG, F.B.; SELIGMAN, A.M.; FINE, J. Transmural migration of intestinal bacteria: a study based on the use of radioactive *Escherichia coli*. **N Engl J Med**, Boston, v. 242, p.747-751, 1950.
82. SHERMAN, P.; SONI, R.; KARMALI, M. Attaching and effacing adherence of vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* to rabbit intestinal epithelium in vivo. **Infect Immun**, Washington, v. 56, p. 756-761, 1988.
83. SIMON, G.L.; GORBACH, S.L. Intestinal microflora. **Med Clin North Am**, Philadelphia, v. 66, p. 557-575, 1982.

84. SINGER, J.M.; ANDRADE, D.F. **Análise de dados longitudinais**. VII SINAPE, Campinas, 1986. 106 p.
85. SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v. 14, suppl, p. 405-445, 1990.
86. SNEDECOR ; COCHRAN, (Ed.). **Statistical Methods**. 6. ed. Ames : The Iowa State University Press, 1967, p. 543.
87. SORI, A.J.; RUSH Jr, B.F.; LYSZ, T.W.; SMITH, S.; MACHIEDO, G.W. The gut as source of sepsis after hemorrhagic shock. **Am J Surg**, Newton, v.155, p. 187-192, 1988.
88. STEFFEN, E.K.; BERG, R.D.; DEITCH, E.A. Comparison of the translocation rates of various indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph node. **J Infect Dis**, Chicago, v. 157, p.1032-1038, 1988.
89. SOUBA, W.W.; HERSKOWITZ, K.; AUSTGEN, T.R.; CHEN, M.K.; SALLON, R.M. Glutamine nutrition: theoretical considerations and therapeutic impact. **J Parenter Enteral Nutr**, Baltimore, v. 14, suppl, p. 237S-243S, 1990.
90. SOUBA, W.W.; KLIMBERG, V.S.; HAUTAMAKI, R.D.; et al. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. **J Surg Res**, New York, v. 48, p. 1-5, 1990.
91. SOUBA, W.W.; KLIMBERG, V.S.; PLUMLEY, D.A.; et al. The role of glutamine in maintaining a healthy gut and supporting the metabolic response to injury and infection. **J Surg Res**, New York, v.48, p. 383-391, 1990.
92. STEINER, M.; BOURGES, H.R.; FREEDMAN, L.S.; GRAY, S.J. Effect of starvation on the tissue composition of the small intestine in the rat. **Am J Physiol**, Bethesda, v. 215, p.75-77, 1968.
93. TAKEUCHI, A. Electron microscope studies on experimental Salmonella infection. I. Penetration into the intestinal epithelium by *Salmonella typhimurium*. **Am J Pathol**, Philadelphia, v. 50, p. 109-136, 1967.
94. TANCREDE, C.H.; ANDREMONT, A.O. Bacterial translocation and gram-negative bacteremia in patients with hematological malignancies. **J Infect Dis**, Chicago, v. 152, p. 99-103, 1985.

95. WALKER, W.A. Pathophysiology of intestinal uptake and absorption of antigens in food allergy. **Ann Allergy**, Bloomington, v. 59, p. 7-16, 1987.
96. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R.L. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. **Arch Surg**, Chicago, v. 122, p. 48-53, 1987.
97. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R.L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev Infect Dis**, Chicago, v. 10, p. 958-979, 1988.
98. WELLS, C.L.; ROTSTEIN, O.D.; PRUETT, T.L. SIMMONS, R.L. Intestinal bacteria translocate into experimental intra-abdominal abscesses. **Arch Surg**, Chicago, v. 121, p. 102-107, 1986.
99. WILLIAMS, R.C.; SHOWALTER, R, KERN F. In vivo effect of bile salts and cholestyramine on intestinal anaerobic bacteria. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 69, p. 483-91, 1975.
100. WILMORE, D.W.; SMITH, R.J.; O'DWYER, S.T.; et al. The gut: a central organ after surgical stress. **Surgery**, St Louis, v. 104, p. 917-923, 1988.
101. WOLF, B.C.; NEIMAN, R.S. Non-neoplastic proliferations of splenic lymphoid tissue. In: _____ (Ed.). **Disorders of the spleen**. Philadelphia : WB Saunders, 1989, p. 55-63.
102. ZIEGLER, T.R.; SMITH, R.J.; O'DWYER, S.T.; DEMLING, R.H.; WILMORE, D.W. Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. **Arch Surg**, Chicago, v. 209, p. 1313-1319, 1988.