

NEMER HAJAR

**EFEITO DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO
DE CARBONO NA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS NORMAIS E
COM COLITE INDUZIDA**

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

Orientador:
Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

Coordenador:
Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

**Curitiba
1999**

HAJAR, Nemer
EFEITO DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE CARBONO NA
TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM
RATOS NORMAIS E COM COLITE INDUZIDA

Nemer Hajar

____ Curitiba, 1999. 66p. 28cm

(Tese – Doutorado – Universidade Federal do Paraná)

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

- | | |
|----------------------------|--------------------|
| 1. Translocação bacteriana | 2. Pneumoperitônio |
| 3. Dióxido de carbono | 4. Colite |
| 5. Ratos | |

NEMER HAJAR

**EFEITO DO PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE
CARBONO NA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS NORMAIS E COM COLITE
INDUZIDA**

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de acadêmico de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão Formada pelos professores:

Prof^a. Dr^a. Cristiane Kist
Universidade de Mc Graill

Prof. Dr. Ulrich Andreas Dietz
Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná

Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Clementino Zeni Neto
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Sérgio Brenner
Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka
Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná

Curitiba, 20 de maio de 1999.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

À **LAILA, YASMINE e FAISSAL**, minha querida família, pela paciência nos momentos de ausência.

Aos meus pais **Senhor SAID** e **Dona EMA**, pelo exemplo de vida e dedicação à família.

Aos meus sogros **Senhor FAYEZ** e **Dona AICHA** pela confiança e respeito que sempre demostram.

“Há grandes homens que fazem com que todos se sintam pequenos. Mas o verdadeiro grande homem é aquele que faz com que todos se sintam grandes”

Gilbert Keith Chesterton

AGRADECIMENTOS

Quero externar sinceros agradecimentos a todos àqueles que contribuíram com suas experiências de vida e profissional para que este trabalho se tornasse realidade.

Ao Prof. Dr. JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA, orientador deste trabalho, pela amizade, exemplo de ser humano, pelo estímulo constante, pelos preciosos ensinamentos, pelo tempo despendido e pelos conselhos e apoio oferecidos em todas as etapas de elaboração desta tese.

Ao Prof. Dr. OSVALDO MALAFAIA, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, notório professor de cirurgia, a quem devemos a organização e continuidade do Programa de Pós-Graduação.

Ao Prof. DR. MICHEL BUFFARA, exemplo de pessoa e médico e que iniciou a minha formação cirúrgica.

Ao Dr. PAULO CÉSAR ANDRIGUETTO, pela valiosa amizade, presença e orientação precisa nos momentos mais importantes de minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. JACQUES PERISSAT pela acolhida em seu Serviço de Cirurgia Videolaparoscópica em Bordeaux - França, onde surgiram as primeiras idéias que deram origem a este trabalho.

Ao Dr. DANIELLSON DIMBARRE, pela amizade e elevado espírito de profissionalismo sempre demonstrados.

À Prof^a. Dr^a. CRISTIANE KIST, pela determinação, incentivo e apoio que sempre estiveram presentes durante todo este tempo em que trabalhamos juntos.

À Prof^a. Dr^a. ANA CRISTINA BORDÓN DE CORVALÁN, pela amizade e incentivo para a realização deste trabalho.

Aos Professores Drs. JÚLIO CEZAR U. COELHO, ANTÔNIO CARLOS L. CAMPOS, JÚLIO CÉSAR WIEDERKEHR, CLEMENTINO ZENI NETO, JORGE EDUARDO FOUTO MATIAS, EDUARDO LOPES MARTINS, ALEXANDRE TEIXEIRA DE FREITAS, JOSUÉ CÂNDIDO PEREIRA, médicos da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas, onde iniciei minha formação cirúrgica.

À FACULDADE EVANGÉLICA DE MEDICINA, pelo disponibilização do laboratório de Imunologia e Microbiologia para a realização da parte experimental deste trabalho.

Aos acadêmicos da FACULDADE EVANGÉLICA DE MEDICINA DO PARANÁ : VINÍCIUS RIBAS DE CARVALHO DUARTE DA FONSECA, ALESSANDRO HARTMANN, KELLY CHI, MANOELA BASSETI SOUZA LIMA e JULIANO EIDT, pelo precioso auxílio no processamento microbiológico das amostras estudadas nesta tese.

À CAPES (Coordenação do Pessoal de Ensino Superior), pela concessão da bolsa de estudos que tornou possível a realização deste projeto de pesquisa.

Ao Sr. VANDERLEI SFREDO, pela confiança e lealdade demonstradas no decorrer de todos estes anos de convívio.

Ao Sr. ADHAURY HENRIQUE DA SILVA, pela sua precisa e gentil orientação nas avaliações estatísticas.

4.4.1	Preparação das amostras.....	24
4.4.2	Meios de cultura empregados.....	24
4.4.2.1	Isolamento e identificação de <i>Escherichia coli</i>	24
4.4.2.2	Isolamento e identificação de <i>Enterococcus faecalis</i>	24
4.4.3	Cultivo, isolamento e identificação de bactérias.....	25
4.4.3.1	Cultivo, isolamento de <i>Escherichia coli</i>	25
4.4.3.1	Cultivo, isolamento de <i>Enterococcus faecalis</i>	25
4.5	AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA.....	26
4.5.1	Histologia.....	26
4.5.2	Translocação Bacteriana.....	27
5	RESULTADOS.....	30
5.1	COMPROVAÇÃO HISTOLÓGICA.....	30
5.2	COMPROVAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	33
6	DISCUSSÃO.....	42
6.1	MODELO ANIMAL.....	42
6.2	MODELO EXPERIMENTAL DE COLITE INDUZIDA.....	42
6.3	PRESSÃO INTRA-ABDOMINAL.....	43
6.4	TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA.....	43
7	CONCLUSÕES.....	48
8	ANEXOS.....	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

% = por cento

μ = micra

$^{\circ}\text{C}$ = graus Celsius

Ch/Fr = unidade Charrie/French

cm = centímetro

CO_2 = dióxido de carbono

COL = colite

COLPP = Colite mais pneumoperitônio

COLPP1 = Colite mais pneumoperitônio 1 hora

COLPP3 = Colite mais pneumoperitônio 3 horas

E. coli = *Escherichia coli*

E. faecalis = *Enterococcus faecalis*

g = grama

h = hora

H_0 = hipóteses de nulidade

H_A = hipóteses de alternativa

LMN = linfonodo mesentérico

mg.Kg^{-1} = miligramas por quilograma

ml = mililitro

ml/kg = mililitro por quilograma

mm = milímetro

mmHg = milímetros de mercúrio

O_2 = oxigênio

pCO_2 = pressão de dióxido de carbono

pH = potencial hidrogeniônico

pO_2 = pressão de oxigênio

PP = pneumoperitônio

PP1 = pneumoperitônio 1 hora

PP3 = pneumoperitônio 3 horas

S = simulação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Organização do experimento.....	16
Tabela 2	Gradação histológica – Colite induzida.....	23
Tabela 3	Modelo para o cálculo da frequência de contingências por grupos estudados.....	28
Tabela 4	Representação do resultado da histologia em valores nominais, numéricos e média dos animais no 7º dia da colite induzida dos grupos COL, COLPP1 e COLPP3.....	31
Tabela 5	Resultados dos testes de homogeneidade das variâncias das médias histológicas.....	32
Tabela 6	Resultados do teste da Análise de Variância (ANOVA) das médias histológicas.....	33
Tabela 7	Representação do número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana por rato.....	34
Tabela 8	Representação da média do número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana em cada grupo.....	35
Tabela 9	Percentual de ocorrência de translocação bacteriana por órgão, sem considerar o gênero da bactéria.....	35
Tabela 10	Ocorrência de translocação bacteriana, independente do gênero de bactéria indicadora isolada nos diferentes órgãos.....	36
Tabela 11	Resultados da análise estatística da ocorrência de translocação bacteriana nos órgãos utilizando o teste de Kruskal-Wallis.....	37
Tabela 12	Frequência de translocação bacteriana dos grupos Simulação x PP1.....	38
Tabela 13	Frequência de translocação bacteriana dos grupos Simulação x PP3.....	39
Tabela 14	Frequência de translocação bacteriana dos grupos Colite x COLPP1.....	39
Tabela 15	Frequência de translocação bacteriana do grupo Colite x COLPP3	39

Tabela 16	O valor de p obtido pelo Teste de Fisher da comparação dos grupos quanto a aplicação de pneumoperitônio.....	39
Tabela 17	Freqüência de translocação bacteriana dos grupos PP1 x PP3.....	40
Tabela 18	Freqüência de translocação bacteriana dos grupos COLPP1 x COLPP3.....	40
Tabela 19	O valor de p obtido pelo Teste de Fisher da comparação dos grupos quanto aos diferentes tempos, uma e três horas de pneumoperitônio.....	40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Representação gráfica de normalidade dos resíduos das médias histológicas.....	32
Gráfico 2	Representação gráfica da média do número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana em cada grupo.....	34
Gráfico 3	Representação gráfica do percentual de ocorrência de translocação bacteriana por órgão, sem considerar o gênero de bactéria indicadora isolada.....	36
Gráfico 4	Representação gráfica da ocorrência de translocação bacteriana, independente do gênero de bactéria indicadora isolada nos diferentes órgãos.....	37
Gráfico 5	Representação gráfica das médias de translocação bacteriana por órgão.....	38

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Freqüência da translocação bacteriana no grupo simulação (S), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado.....	50
Anexo 2	Freqüência da translocação bacteriana no grupo pneumoperitônio (PP), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado em 1 e 3 horas.....	51
Anexo 3	Freqüência da translocação bacteriana no grupo colite mais pneumoperitônio (COLPP), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado em 1 e 3 horas..	52
Anexo 4	Freqüência da translocação bacteriana no grupo colite (COL), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado.....	53
Anexo 5	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos simulação e PP1.....	54
Anexo 6	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos simulação e PP3.....	54
Anexo 7	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COL e COLPP1.....	55
Anexo 8	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COL e COLPP3.....	55
Anexo 9	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos PP1 e PP3.....	56
Anexo 10	Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COLPP1 e COLPP3.....	56

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência da translocação bacteriana em vigência de pneumoperitônio com dióxido de carbono e duração de 1 ou 3 horas em ratos normais e em ratos induzidos com colite pelo ácido acético a 10%. Foram utilizados 60 ratos Wistar, machos, pesando entre 250 a 290g, divididos em 6 grupos com 10 animais cada. Ao grupo simulação foi realizada laparotomia mediana com manipulação dos órgãos abdominais, os grupos PP1 e PP3 foram submetidos a pneumoperitônio por 1 e 3 horas respectivamente. Outros trinta animais foram induzidos com colite, sendo separados no 7º dia de evolução em grupos COL (laparotomia mediana com manipulação dos órgãos abdominais), COLPP1 e COLPP3 que foram submetidos a pneumoperitônio por 1 e 3 horas respectivamente. A pressão intra-abdominal foi mantida em todos os grupos a 10mmHg em média. Após 18 horas da realização da laparotomia ou do pneumoperitônio os animais foram sacrificados e coletados: fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos para cultura bacteriológica e segmento de cólon, dos animais submetidos a indução da colite, para estudo histológico. O resultado da pesquisa bacteriológica demonstrou translocação de *Escherichia coli* e/ou *Enterococcus faecalis* em média de 0,3 dos órgãos estudados no grupo simulação, 3,1 no grupo PP1, 3,4 no grupo PP3, 2,1 no grupo COL e 3,5 nos grupos COLPP1 e COLPP3. Nenhum dos órgãos estudados apresentou diferença significativa dos demais quanto à ocorrência de translocação bacteriana. A comparação entre os grupos simulação com PP1 e simulação com PP3 apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto à ocorrência de translocação bacteriana ($p=0,0000$). Entre os grupos COL e COLPP1, COL e COLPP3 os valores de p foram 0,0017 e 0,0006 respectivamente e os grupos PP1 com PP3 e COLPP1 com COLPP3, 0,5679 e 1,0000 respectivamente. Concluiu-se que o pneumoperitônio com CO_2 a 10mmHg induz translocação bacteriana em ratos normais e a incrementa em vigência de colite. A duração de 1 ou 3 horas de pneumoperitônio não incrementou translocação bacteriana nos ratos normais nem naqueles submetidos à colite.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate bacterial translocation in normal rat with pneumoperitoneum induced by carbon dioxide at 10mmHg in 1 and 3 hours, and in rat with induced colitis by acetic acid at 10%. Sixty male Wistar rats, weighting between 250 and 290g, were divided in 6 groups of 10 animals. In the sham group, median laparotomy was undertaken and the intra-abdominal organs were manipulated, the groups PP1 and PP3 were submitted to pneumoperitoneum for 1 and 3 hours respectively. The other 30 rats were induced with colitis, and they were separated by the 7^o day in groups COL (median laparotomy with manipulation of the intra-abdominal organs), COLPP1 and COLPP3 that were submitted to pneumoperitoneum for 1 and 3 hours respectively. In all groups, the intra-abdominal pressure was sustained at an average of 10mmHg. After 18 hours that laparotomy and pneumoperitoneum were undertaken in the various groups, the animals were sacrificed and the liver, kidney, spleen and mesenteric lymph nodes were collected and sent to bacteriological culture; and a segment of colon was also collected and sent to histological study. The bacteriological study showed translocation of *Escherichia coli* and/or *Enterococcus faecalis* on the average of 0.3 of the organs in the sham group, 3.1 in group PP1, 3.4 in group PP3; 2.1 in group COL and 3.5 in groups COLPP1 and COLPP3. None of the organs that were studied showed significant difference related to bacterial translocation. The comparison between the sham group and groups PP1 and PP3 showed a significant difference related to the presence of bacterial translocation ($p=0.0000$). Between the groups COL x COLPP1 and COL x COLPP3, the p values were 0.0017 and 0.0006 respectively and in groups PP1 x PP3 and COLPP1 x COLPP3, the p values were 0.5679 and 1.000 respectively. It was concluded that pneumoperitoneum induced with CO₂ at 10mmHg induces bacterial translocation in normal rat and it also increases it during colitis. The pneumoperitoneum length of 1 or 3 hours did not increase bacterial translocation neither in normal rat nor in those animals with induced colitis.

1 Introdução

A prática da intervenção cirúrgica laparoscópica expandiu-se rapidamente, após MOURET ⁶⁶ em 1987 ter realizado a primeira colecistectomia videolaparoscópica. Esta nova via de acesso cirúrgico passou a oferecer diversas vantagens sobre a via convencional em aspectos como: relatos de dor pós-operatória menos intensa, diminuição da permanência hospitalar, retorno precoce às atividades habituais e aspectos estéticos mais favoráveis ^{24,67}.

Este procedimento pode apresentar complicações inerentes a técnica e dentre elas destacam-se as relacionadas à insuflação do gás na cavidade abdominal, caracterizadas pela ocorrência de enfisema parietal, injeção de gás no omento, no interior de um órgão abdominal ou grande vaso. Sabe-se que o aumento da pressão intra-abdominal pode ocasionar complicações respiratórias devido a elevação da cúpula diafragmática, o que determina dificuldade respiratória e de ventilação pulmonar. Outra complicação decorrente do aumento da pressão intra-abdominal, refere-se às alterações circulatórias causadas pela compressão da veia cava inferior, com conseqüente redução do fluxo venoso, proveniente dos membros inferiores. Como efeito cascata, verifica-se redução do débito cardíaco, bradicardia e possível parada cardíaca ^{23,75}.

Também como conseqüência da compressão vascular, cita-se a ocorrência de hipofluxo esplâncnico levando a hipoperfusão de órgãos abdominais. No intestino observa-se que a redução do fluxo sanguíneo, pode ocasionar isquemia, com alterações dos componentes da barreira intestinal ⁹⁴.

Entre estes componentes destaca-se a mucosa intestinal, que tem como funções primárias a digestão e absorção de nutrientes, também age como importante barreira mecânica que auxilia a impedir seletivamente a disseminação sistêmica de microorganismos e suas endotoxinas ⁶¹. Se a mucosa apresentar alteração de um dos três fatores fisiológicos básicos: a barreira mecânica imposta pela camada epitelial do intestino, as defesas imunes e a flora normal do intestino, ocorrerá disseminação sistêmica de bactérias da luz intestinal, com possibilidades de levar o paciente a quadro séptico, que tende a evoluir para a Síndrome de Disfunção Múltipla dos Órgãos sem a definição de foco infeccioso inicial ^{30,31,45,97,98}.

Este evento caracteriza a translocação bacteriana que é definida como passagem de microorganismos viáveis através da parede intestinal para os ductos linfáticos, órgãos abdominais e circulação sistêmica^{1,2,9,19,30,31,41,42,59,62}.

A observação de complicações infecciosas, e em alguns casos com evolução para êxito letal, sem foco aparente em pacientes submetidos a procedimentos laparoscópicos com pneumoperitônio⁴³, foi motivo para a realização deste estudo, que objetivou avaliar experimentalmente a translocação bacteriana decorrente da ação do pneumoperitônio com CO₂ por diferentes tempos de duração em ratos normais e ratos com colite induzida por ácido acético a 10%.

2 Objetivos

Este estudo tem por objetivo responder aos seguintes questionamentos:

1. Determinar se o pneumoperitônio com CO₂ induz translocação bacteriana em ratos normais;
 2. Determinar se o pneumoperitônio com CO₂ incrementa a translocação bacteriana em ratos submetidos a colite induzida;
 3. Determinar se o tempo de duração do pneumoperitônio com CO₂ incrementa a translocação bacteriana em ratos normais;
 4. Determinar se o tempo de duração do pneumoperitônio com CO₂ incrementa a translocação bacteriana em ratos submetidos a colite induzida.
-

3 Revisão da Literatura

A translocação bacteriana pode ser reproduzida em vários modelos experimentais, e parece que a quebra de pelo menos uma das três funções fisiológicas básicas da barreira intestinal deve estar envolvida para sua ocorrência. Estes modelos experimentais descrevem o envolvimento de distintas situações como: a ação de endotoxinas ^{25,27,49}, lesão térmica ^{59,60}, choque hemorrágico ^{10,71,72,73}, isquemia mesentérica ^{61,89}, nutrição parenteral ^{4,18,21}, nutrição enteral ³, icterícia obstrutiva ^{20,22,28,87}, antibióticos via oral ³³, obstrução intestinal ^{26,32,62,99,100}, infecção intra-abdominal ⁹¹, traumas severos ^{25,29,35}, uso de corticosteróides ⁵, depleção de células T ³⁴, colite induzida ^{46,70}, ascite ⁵⁵ e outros.

A lesão da barreira mucosa intestinal por isquemia e reperfusão, parece ser fator importante na ocorrência de translocação bacteriana pois o choque hipovolêmico e a elevação da pressão intra-abdominal diminuem a perfusão sistêmica o que determina alterações na microvascularização esplâncnica. Desta forma ocorre redução do fluxo sanguíneo intestinal com conseqüente hipoperfusão da mucosa ^{7,9,53,57,69,72,81,84,85,95}.

Alguns autores estudaram experimentalmente os efeitos da elevação da pressão intra-abdominal, avaliando as alterações do fluxo sanguíneo no sistema esplâncnico e as conseqüentes alterações perfusionais da mucosa intestinal.

Neste contexto, CALDWELL et al. ¹⁷ para demonstrarem a ação do aumento da pressão intra-abdominal sobre o fluxo sanguíneo de vísceras abdominais, utilizaram 9 cães que foram submetidos à laparotomia e inserção de bolsa inflável na cavidade peritoneal. O fluxo sanguíneo foi avaliado através da detecção de microesferas radioativas injetadas na circulação sanguínea. Estudaram a circulação sanguínea do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, pâncreas, fígado, rins e supra-renais, em animais sob pressão intra-abdominal normal e em animais sob pressão de 20 e 40mmHg, mantidas por insuflação da bolsa. Demonstraram que o aumento da pressão intra-abdominal determinou além da isquemia das vísceras estudadas, também suas disfunções.

DIEBEL et al. ³⁸ para estudarem os efeitos da pressão intra-abdominal sobre o fluxo sanguíneo da artéria mesentérica e mucosa intestinal, utilizaram 8 porcos, que foram monitorados quanto ao fluxo sanguíneo da artéria mesentérica e

da mucosa intestinal. Empregaram fluxômetro Laser-Doppler e determinaram pH da mucosa intestinal, pressão arterial média, débito cardíaco e pressão da artéria pulmonar. O aumento da pressão intra-abdominal foi conseguido através da infusão de solução de ringer-lactato na cavidade abdominal, sendo realizadas avaliações em 10, 20, 30 e 40mmHg. Os resultados obtidos demonstraram que a partir da pressão intra-abdominal de 20mmHg o fluxo da artéria mesentérica diminuiu 73% ($p<0,05$) e o fluxo sanguíneo da mucosa intestinal diminuiu em 61% ($p<0,05$) de seus valores basais. Estas alterações sofreram agravamento até ser atingida a pressão de 40mmHg. Concluíram que as modificações observadas no fluxo sanguíneo determinam severa isquemia da mucosa intestinal.

DIEBEL et al.⁴⁰ seguiram a mesma linha de pesquisa do estudo anteriormente descrito e estudaram os efeitos do aumento da pressão intra-abdominal sobre a artéria hepática, veia porta e o fluxo sanguíneo da microcirculação hepática. Para avaliar o fluxo da artéria hepática e da veia porta utilizaram um transdutor de fluxo Doppler e para avaliar a microcirculação hepática serviram-se de fluxômetro Laser-Doppler. Cinco porcos foram anestesiados e submetidos a pneumoperitônio progressivo com 10, 20, 30 e 40mmHg pela insuflação de CO₂ na cavidade abdominal, a pressão arterial média foi mantida através da infusão de solução salina isotônica. Os resultados demonstraram que embora o débito cardíaco e a pressão arterial média estivessem normais, houveram reduções significativas no fluxo da artéria hepática e microcirculação hepática a partir de 10mmHg de pressão intra-abdominal, com 20mmHg de pressão, o fluxo da artéria hepática estava reduzido em 45% de seu valor normal, o fluxo da veia porta reduzido em 65% e o fluxo da microcirculação hepática reduzido em 71% ($p<0,05$). O fluxo sanguíneo hepático reduziu ainda mais quando foram avaliadas as pressões intra-abdominais de 30 e 40mmHg. Concluíram que o aumento da pressão intra-abdominal causa alteração significativa no fluxo sanguíneo hepático, embora o débito cardíaco e pressão arterial média estivessem normais neste experimento.

Para as investigações hemodinâmicas determinadas pelo aumento da pressão intra-abdominal, KOTZAMPASSI et al.⁵⁶, utilizaram 16 cães divididos em 2 grupos: em um grupo foi insuflada a cavidade abdominal com CO₂ e ao outro com

Hélio, mantendo-se em ambos os grupos a pressão em 14mmHg em média. As avaliações ocorreram 1, 2, 5, 15, 30, 45 e 60 minutos e as variáveis estudadas foram: fluxo da mucosa intestinal avaliada por transdutor Laser-Doppler, determinação da pressão portal e pCO₂ de sangue portal através de cateter inserido na veia mesentérica, determinação do pH intramural jejunal, mensurado por determinador de pH, pressão e pCO₂ de sangue da veia cava inferior, determinados por cateter inserido na veia femoral e pressão arterial média determinada por cateter introduzido na artéria femoral. Os resultados demonstraram redução do fluxo sanguíneo da mucosa jejunal ($p < 0,0001$), e o pH intramural revelou isquemia da mucosa intestinal. Este estudo demonstrou que severas alterações hemodinâmicas ocorrem não somente na circulação sistêmica, mas também nas vísceras da cavidade abdominal, devido à ação do pneumoperitônio que eleva as pressões da veia porta e cava inferior, induzindo congestão e isquemia do fluxo esplâncnico.

ISHIZAKI et al.⁵⁰ determinaram as alterações do fluxo sanguíneo esplâncnico e efeitos cardiovasculares devido a ação da insuflação peritoneal de CO₂. Avaliaram 6 cães que foram submetidos a pneumoperitônio sob pressão média de 16mmHg durante 3 horas, pela medição do débito cardíaco, fluxo sanguíneo da artéria mesentérica superior e veia porta. Os resultados demonstraram que a compressão determinada pelo aumento da pressão intra-abdominal reduz o fluxo do sistêmico esplâncnico, que induz a diminuição do débito cardíaco. Sugeriram estes autores a necessidade de se proceder descompressão da cavidade abdominal de maneira intermitente durante a cirurgia laparoscópica.

As observações de RASMUSSEN et al.⁶⁸, relacionadas às alterações hemodinâmicas do sistema esplâncnico sob ação do pneumoperitônio com CO₂, foram obtidas após a utilização de 11 porcos organizados em grupo controle com 4 animais e grupo experimento com 7. Os animais do grupo experimento foram submetidos a insuflação intra-abdominal de CO₂, elevando-se a pressão de 0 a 25mmHg. Foram avaliados: fluxo sanguíneo, pressão venosa, resistência vascular portal e resistência vascular gastrointestinal. Os resultados demonstraram que a pressão intra-abdominal de 25mmHg reduz o fluxo sanguíneo portal em 66%, a pressão venosa e resistência vascular portal aumentam em 360% e 650%

respectivamente, a resistência vascular gastrointestinal apresentou aumento pouco pronunciado. Concluíram que a pressão intra-abdominal acima de 15mmHg causa significantes alterações hemodinâmicas no sistema esplâncnico.

SALA-BLANCH et al.⁷⁴ avaliaram os efeitos do aumento da pressão intra-abdominal pela insuflação de gás usado durante a cirurgia laparoscópica. Foram relatadas as alterações de fluxo sanguíneo hepático. Para tal utilizaram os gases Hélio e Dióxido de Carbono como agentes insufladores da cavidade abdominal, e analisaram seus efeitos sobre o fluxo sanguíneo hepático. Este estudo foi procedido em doze porcos que foram anestesiados e mantidos sob ventilação mecânica. Dois grupos de 6 animais cada, sendo que em um grupo foi realizada insuflação da cavidade abdominal com CO₂ e o outro com Hélio, até o máximo de 15mmHg de pressão intra-abdominal. Os parâmetros hemodinâmicos, troca de gases e índices de oxigenação foram determinados no início do experimento, aos 90 e 150 minutos após iniciado o pneumoperitônio e 30 minutos após a desinsuflação da cavidade abdominal. Para determinar o fluxo sanguíneo hepático, utilizaram um corante, o Verde de Indocianina, que foi mensurado através da cateterização da veia hepática. Os resultados obtidos demonstraram que o débito cardíaco foi similar durante a insuflação de ambos os gases. A concentração de oxigênio na veia hepática diminuiu em relação aos valores normais durante o pneumoperitônio com Hélio ($p < 0,05$), e não houveram alterações na insuflação de CO₂. O fluxo sanguíneo hepático apresentou significativa redução após 90 minutos de insuflação abdominal com os dois gases, com Hélio 63%, ($p < 0,001$) e CO₂ 24 % ($p < 0,05$). Definiram que os dois gases utilizados na insuflação abdominal reduzem o fluxo sanguíneo hepático pelo aumento da pressão intra-abdominal, porém, a utilização do gás Hélio apresenta maior redução no fluxo sanguíneo hepático.

Com o objetivo de definir a melhor pressão intra-abdominal nos procedimentos laparoscópicos que determinasse menores alterações hemodinâmicas e metabólicas no sistema esplâncnico e pulmonar, WINDBERGER et al.⁹³ utilizaram 10 porcos, que foram submetidos a pneumoperitônio com CO₂ sob pressão média de 7 e 14mmHg e avaliados a cada 30 minutos. Analisaram pH intramural intestinal e hepático além do fluxo sanguíneo hepático e pulmonar. Os resultados demonstram a

ocorrência de paralelismo entre o aumento da pressão intra-abdominal e aumento da pressão da artéria pulmonar ($p < 0,05$), aumento da pressão do sistema capilar arterial pulmonar ($p < 0,01$) e diminuição da concentração de oxigenação arterial ($p < 0,005$). Ocorreu aumento da pressão venosa portal (12 ± 3 à 17 ± 3 mmHg para 7 mmHg pressão intra-abdominal e 22 ± 3 mmHg para 14 mmHg de pressão intra-abdominal, $p < 0,01$) e da artéria hepática (8 ± 3 à 14 ± 6 mmHg para 7 mmHg de pressão intra-abdominal e 19 ± 6 mmHg para 14 mmHg de pressão intra-abdominal, $p < 0,005$) em relação ao aumento da pressão intra-abdominal. O fluxo portal foi mantido na pressão intra-abdominal de 7 mmHg e diminuiu em 14 mmHg (474 ± 199 para 395 ± 175 ml/min, $p < 0,01$) o fluxo arterial hepático se manteve constante. O pH intramural intestinal e hepático diminuíram (intestinal: de $7,323 \pm 0,05$ para $7,217 \pm 0,04$, $p < 0,01$ - hepático de $7,259 \pm 0,04$ para $7,125 \pm 0,06$, $p < 0,01$) com o aumento da pressão intra-abdominal. Demonstraram neste modelo animal que os efeitos da pressão do pneumoperitônio de 7 mmHg são mínimos sobre a perfusão esplâncica, no entanto, a pressão de 14 mmHg determina diminuição do fluxo sanguíneo portal e hepático bem como do pH intramural do intestino.

Alguns pesquisadores além de avaliarem as alterações do fluxo esplâncico decorrente do aumento da pressão intra-abdominal, investigaram correlação destas alterações com a ocorrência de translocação bacteriana.

Assim sendo, YOSHIDA et al.⁹⁶ suspeitando que a exposição da cavidade peritoneal ao ar ambiente induzia a translocação bacteriana, realizaram estudo utilizando 5 grupos de 4 ratos cada, sendo que cada grupo foi submetido aos seguintes procedimentos: ressecção de 70% da massa hepática, anastomose ileal, laparotomia, pneumoperitônio e ao grupo controle nenhum procedimento foi realizado. Ao grupo submetido ao pneumoperitônio foi insuflada a cavidade abdominal com 20 ml de dióxido de carbono, os autores não fazem alusão a mensuração da pressão intra-abdominal. Após 24 horas da realização dos procedimentos os animais foram sacrificados e obtidas amostras de linfonodos mesentéricos, que foram submetidos a culturas para identificação de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* que são determinadores de translocação bacteriana. Os resultados demonstram culturas bacterianas positivas nos grupos de ressecção

hepática, anastomose ileal e laparotomia, nos grupos controle e pneumoperitônio não foi identificado crescimento bacteriano determinante de translocação. Os autores sugerem que neste modelo experimental, o pneumoperitônio não induziu a translocação bacteriana.

Importantes definições foram comprovadas por ELEFTHERIADIS et al.⁴², com respeito à correlação entre elevação da pressão intra-abdominal em ratos com isquemia, estresse oxidativo e translocação bacteriana. Foram estudados oitenta e oito ratos Wistar, submetidos à pneumoperitônio de 15mmHg por 60 minutos e os seguintes parâmetros foram avaliados: média da pressão arterial por cateterização carotídea, microcirculação intestinal por meio de Laser-Doppler, atividade metabólica intestinal (extração de O₂) por amostragem de sangue venoso portal e arterial carotídeo, produção de radicais livres de peróxido em intestino, fígado, baço e pulmões, pela pesquisa de malondialdeído, e ainda, translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, fígado e baço, 3 e 18 horas após desinsuflação do pneumoperitônio. A pressão arterial média não demonstrou alterações significativas, contudo, a microcirculação jejunal apresentou-se diminuída (p=0,0001), bem como a atividade metabólica (p=0,025). O malondialdeído estava aumentado na mucosa intestinal (p=0,0002), fígado (p=0,02), baço (p=0,05) e pulmões (p=0,017). A translocação bacteriana após 3 horas de pneumoperitônio foi significativa para linfonodos mesentéricos (p=0,002), baço (p=0,02), fígado (p=0,05). Nos animais submetidos ao pneumoperitônio e avaliados 18 horas após, não ocorreu translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, porém, houve translocação para fígado (p=0,008) e baço (p=0,035). Este estudo experimental mostrou que a insuflação intra-abdominal de gás é responsável por isquemia intestinal, produção de radicais livres e translocação bacteriana.

A síndrome compartimental abdominal foi avaliada por DIEBEL et al.³⁷ em relação a isquemia esplâncnica e translocação bacteriana, para tal, utilizaram 23 ratos que foram organizados em 4 grupos, onde se avaliou o fluxo da mucosa ileal e translocação bacteriana na vigência de pneumoperitônio com CO₂ sob pressão entre 20 a 25mmHg por 60 minutos. Para avaliar o fluxo sanguíneo da mucosa foi utilizado um transdutor Laser-Doppler aplicado diretamente sobre a mucosa e para a

determinação da translocação bacteriana foi realizada cultura de linfonodos mesentéricos, baço e fígado, coletados 24 horas após o pneumoperitônio. Os resultados obtidos demonstraram que o aumento da pressão intra-abdominal determinou redução no fluxo sanguíneo da mucosa ileal em 63% ($p < 0,05$), embora a pressão arterial média estivesse dentro dos limites da normalidade, e aumento nos índices de translocação bacteriana, verificado pelo crescimento bacteriano nas culturas, principalmente, dos linfonodos mesentéricos ($p < 0,05$).

Os efeitos de hemorragia severa associada ao aumento da pressão intra-abdominal com relação a translocação bacteriana, foram estudados por GARGIULO III et al.⁴⁷. Utilizaram 27 ratos que foram divididos em 4 grupos: grupo 1 foi submetido a laparotomia e serviu como controle, no grupo 2 foi induzida hemorragia de 25% de volume sanguíneo, no grupo 3 além da hemorragia de 25%, foi realizado pneumoperitônio com CO₂ a 10mmHg por 40 minutos e o grupo 4 submeteu-se somente a pressão intra-abdominal de 40mmHg. A translocação bacteriana foi avaliada nestes animais através de culturas de amostras de fígado, linfonodos mesentéricos e baço, coletados 2 horas após os procedimentos. Os resultados deste estudo demonstraram que a hemorragia de 25% da volemia sanguínea isoladamente não eleva os índices de translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, fígado e baço, porém o aumento da pressão intra-abdominal em 10mmHg resultou em aumento significativo da translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos e fígado ($p < 0,05$) e a hemorragia quando associada ao aumento da pressão intra-abdominal também resultou em maior translocação bacteriana, verificada em culturas de fígado e baço ($p < 0,05$). Os autores sugerem neste experimento que o pneumoperitônio isolado ou associado a hemorragia severa, seria um fator facilitador para translocação bacteriana o que não se observou no grupo submetido somente a hemorragia.

TUG et al.⁸⁸ com o objetivo de estudarem os efeitos do aumento da pressão intra-abdominal determinada pela ação do dióxido de carbono, utilizaram 18 cães divididos em 3 grupos: grupo 1 foi considerado como controle e os grupos 2 e 3 foram submetidos a pneumoperitônio com CO₂ a pressão de 15mmHg por 30 e 120 minutos respectivamente. Foram avaliadas amostras de gordura peritoneal, sangue

portal, linfonodos mesentéricos, fígado, baço e ceco, coletados após a realização do procedimento. Analisados os resultados os autores concluíram que a pressão intra-abdominal de 15mmHg determinada pela ação do CO₂ não incrementou a translocação bacteriana, mas determinou maior colonização bacteriana no ceco após 30 e 120 minutos de pneumoperitônio.

A flora intestinal nativa foi estudada quando intacta como fator de defesa do organismo, porém quando apresenta alguma lesão em sua mucosa intestinal poderá levar a passagem de bactérias através desta. A doença inflamatória intestinal é um destes agentes que induz translocação bacteriana como foi demonstrada em modelo experimental de colite induzida por GARDINER et al.⁴⁶ que utilizaram 16 ratos Wistar, sendo 8 destes submetidos à instilação de ácido 2, 4, 6 - trinitrobenzenosulfônico por via retal, para a indução da colite. Após 7 dias os animais foram sacrificados e coletadas amostras de linfonodos mesentéricos, fígado, baço, para realização de culturas, e também obtidas amostras de cólon para caracterizar histologicamente a severidade da colite seguindo os critérios preconizados por WALLACE et al.. Os resultados demonstraram crescimento bacteriano em cinco dos oito linfonodos coletados ($p=0,01$), quatro no baço ($p=0,04$), cinco no fígado ($p=0,01$) e não houve isolamento de bactérias nas amostras de animais do grupo controle. Os testes de correlação foram positivos e foram comparadas a severidade da inflamação colônica com a intensidade da translocação bacteriana ($r=0,86$, $p=0,007$). Os autores concluem que neste modelo experimental de colite induzida existe correlação significativa entre a translocação bacteriana e a severidade histológica da lesão colônica.

4 Material e Método

4.1 DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO

Este estudo foi realizado nas dependências do laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

Tem por escopo, a investigação da translocação bacteriana na vigência de pneumoperitônio com dióxido de carbono em ratos Wistar normais e em ratos com colite induzida. A incidência de translocação bacteriana nos grupos estudados foi comparada através de análise estatística para determinação da sua significância.

Foram adotadas as Normas para Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná (1995), Normas para Referências Bibliográficas de Títulos e Periódicos da Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR-6023) (1989), Nômina Anatômica Veterinária (1983), bem como, os Princípios Éticos na Experimentação Animal propostas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA – 1995). A organização deste experimento obedeceu a distribuição e procedimentos conforme tabela abaixo:

Tabela 1: Organização do experimento

Grupos	N	Procedimento	Objetivo
S	10	laparotomia mediana com manipulação de órgãos abdominais	Avaliar a translocação bacteriana no procedimento de laparotomia.
PP1	10	Indução de pneumoperitônio por CO ₂ durante 1 hora	Avaliar a translocação bacteriana em vigência de pneumoperitônio com CO ₂ por 1 hora
PP3	10	Indução de pneumoperitônio por CO ₂ durante 3 horas	Avaliar a translocação bacteriana em vigência de pneumoperitônio com CO ₂ por 3 horas
COL	10	Indução de colite experimental e laparotomia mediana com manipulação de órgãos abdominais	Avaliar a translocação bacteriana em vigência de colite induzida.
COLPP1	10	Indução de colite experimental e de pneumoperitônio por CO ₂ durante 1 hora	Avaliar a translocação bacteriana em vigência de pneumoperitônio com CO ₂ por 1 hora
COLPP3	10	Indução de colite experimental e de pneumoperitônio por CO ₂ durante 3 horas	Avaliar a translocação bacteriana em vigência de pneumoperitônio com CO ₂ por 3 horas

4.2 AMOSTRA

4.2.1 Animais estudados

Foram utilizados 60 ratos albinos machos, (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, com peso variando entre 250 a 290g, procedentes do Biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná.

4.2.1.1 Organização e grupos de animais

Os animais foram distribuídos em 6 grupos com 10 ratos cada. Grupo simulação (S), grupo pneumoperitônio 1 hora (PP1), grupo pneumoperitônio 3 horas (PP3), grupo colite (COL), grupo colite pneumoperitônio 1 hora (COLPP1), grupo colite pneumoperitônio 3 horas (COLPP3). Os animais foram alojados em caixas com 5 ratos, permanecendo durante todo o experimento em temperatura ambiente, com livre acesso à ração balanceada para espécie, Nuvital®, e água *ad libitum* até o momento do sacrifício.

4.2.1.1.1 Grupo simulação (S)

Neste grupo, 10 ratos foram submetidos à laparotomia mediana e manipulação de órgãos abdominais, em seguida realizada sutura contínua da parede abdominal em dois planos com fio algodão 2-0. Após 18 horas foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen®) e coletadas amostras de fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos.

4.2.1.1.2 Grupo pneumoperitônio 1 hora (PP1)

Constituído por 10 ratos, que foram submetidos ao pneumoperitônio com CO₂ pelo período de 1 hora, após realizada a desinsuflação. Após 18 horas foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen®) e coletadas amostras de fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos.

4.2.1.1.3 Grupo pneumoperitônio 3 horas (PP3)

Constituído por 10 ratos, que foram submetidos ao pneumoperitônio com CO₂ pelo período de 3 horas, após realizada a desinsuflação. Após 18 horas foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen[®]) e coletadas amostras de fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos.

4.2.1.1.4 Grupo colite (COL)

Constituído por 10 ratos, que foram induzidos a colite pela ação do ácido acético a 10% instilada por via retal, 7 dias antes do pneumoperitônio após os animais foram submetidos à laparotomia mediana, manipulação de órgãos abdominais e em seguida realizada sutura contínua da parede abdominal em dois planos com fio algodão 2-0. Após 18 horas do pneumoperitônio, os animais foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen[®]) e coletadas amostras de fígado, baço, rins, linfonodos mesentéricos e segmento de cólon.

4.2.1.1.5 Grupo colite pneumoperitônio 1 hora (COLPP1)

Neste grupo, os ratos com colite induzida, foram submetidos à pneumoperitônio com CO₂ pelo período de 1 hora, em seguida desinsuflou-se a cavidade abdominal e após 18 horas deste procedimento, os animais foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen[®]) e coletadas amostras de fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos e segmento de cólon.

4.2.1.1.6 Grupo colite pneumoperitônio 3 horas (COLPP3)

Neste grupo, os ratos com colite induzida, foram submetidos a pneumoperitônio com CO₂ pelo período de 3 horas, em seguida desinsuflou-se a cavidade abdominal e após 18 horas deste procedimento, os animais foram sacrificados por inalação letal de Éter Sulfúrico (Reagen[®]) e coletadas amostras de fígado, baço, rins e linfonodos mesentéricos e segmento de cólon.

4.2.2 Indução da colite

Seguiu-se o procedimento descrito por MACPHERSON e PFEIFFER ⁵⁸ que consta das seguintes etapas:

- Utilização, tanto para a etapa de preparo intestinal como para a indução da colite, de cateter 6 Ch/Fr, de polietileno medindo 9cm de comprimento com múltiplos orifícios, a cada 3mm em uma extensão de 5cm da extremidade distal que estava fechada;
- O animal em jejum por 24 horas antes do início do experimento;
- Preparo intestinal, pela instilação por via retal de 20ml de solução fisiológica;
- Decorridas 24 horas, o animal foi anestesiado com administração intraperitoneal, no quadrante inferior esquerdo do abdômen, com Hidrato de Cloral a 10% numa dose de 300mg.Kg⁻¹;
- Animal em decúbito ventral supino, foi introduzido por via retal cateter e instilado 0,5ml de ácido acético a 10%.

4.2.3 Indução do pneumoperitônio

Para a indução do pneumoperitônio utilizou-se insuflador eletrônico de CO₂ (Karl Storz – modelo 264300-20) que foi conectado através de tubo estéril de silicone a um dispositivo distribuidor de gás, projetado no laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná e constituído em vidro especial para suportar altas pressões, com 1 entrada de gás e 10 saídas, onde foram conectados 10 animais simultaneamente (figura 2).

Para realizar este procedimento foram seguidas as seguintes etapas:

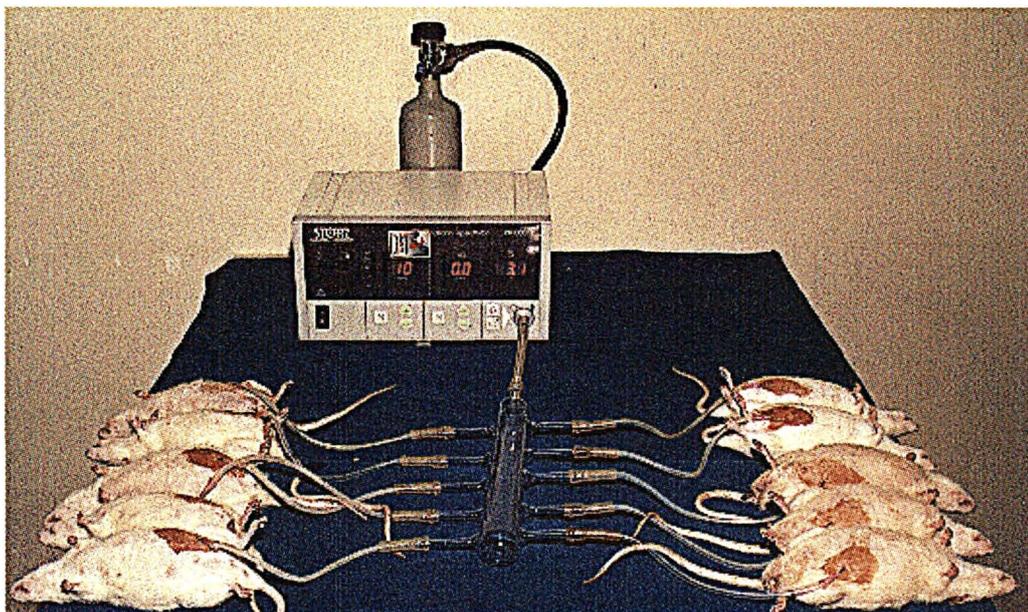
- Jejum nas 24 horas que antecederam o procedimento;
- Anestesia com administração intraperitoneal, no quadrante inferior esquerdo do abdômen, de Hidrato de Cloral a 10% na dose de 300mg.Kg⁻¹
- Animais em decúbito dorsal, realizada anti-sepsia abdominal com polivinil-pirrolidona-iodo e em seguida puncionados no quadrante inferior esquerdo do abdômen, com agulha 40X12mm com ponta romba; (figura 1)

Figura 1: Ratos submetidos ao pneumoperitônio.



- A agulha foi conectada através de tubo de silicone esterilizado ao dispositivo distribuidor de CO₂ e este ao insuflador eletrônico; (figura 2)

Figura 2: Ratos mantidos em pneumoperitônio simultaneamente com utilização de insuflador eletrônico e distribuidor de CO₂.



- Os animais foram mantidos à pressão intra-abdominal de 10mmHg¹¹ pela insuflação de 50 a 100ml/min de CO₂, por período de tempo pré-determinado sob temperatura constante, conforme recomendado por BACELAR Jr⁸, e respiração espontânea.

4.2.4 Sacrifício e coleta das amostras

Os ratos foram sacrificados 18 horas após a realização do pneumoperitônio nos grupos PP1, PP3, COLPP1 e COLPP3, 18 horas após a realização da laparotomia no grupo S e no 7º dia após a indução da colite no grupo COL.

Para o sacrifício e coleta das amostras de órgãos seguiram-se as seguintes etapas:

- Inalação letal de éter sulfúrico para o sacrifício do animal;
 - Animal colocado em decúbito dorsal com fixação das extremidades;
 - Tricotomia abdominal, anti-sepsia local com polivinil-pirrolidona-iodo e colocação de campos esterilizados de aplicação indireta;
 - Ressecção da parede abdominal, para exposição dos órgãos abdominais;
 - Coleta dos rins, baço, fígado e linfonodos mesentéricos, sempre nessa seqüência para todos os animais com conjuntos individualizados de pinças e tesouras;
 - As amostras foram acondicionadas em placas de Petri esterilizadas para posterior processamento laboratorial;
 - Ressecados 2cm de cólon a partir do ânus, dos animais contidos nos grupos que foram submetidos a colite induzida, para avaliação histológica.
-

4.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

4.3.1 Processamento histológico do fragmento de cólon

O fragmento de cólon foi estirado e fixado sobre superfície de papel cartão e a seguir submerso em formalina. Após decorridos 48 horas os fragmentos foram submetidos à técnica histológica de rotina que constitui em:

- Desidratação;
- Diafanização;
- Infiltração em parafina e emblocamento;
- Microtomia;
- Hidratação;
- Coloração com método usual de hematoxilina-eosina, recorrendo-se à diluição de hematoxilina de HARRIS para a coloração nuclear e solução aquosa de eosina amarelada a 1% para coloração citoplasmática ⁶⁴;
- Montagem da lâmina;
- Para leitura histológica, foi utilizado o microscópio óptico comum.

4.3.2 Avaliação histológica das amostras

As lâminas com cortes histológicos foram aferidas seguindo-se os critérios de graduação histológica da indução da lesão proposto por MORAES em 1987 ⁶⁵, como segue na tabela 2.

Tabela 2: Graduação histológica – Colite induzida

GRAUS	ASPECTOS HISTOLÓGICOS
0	mucosa normal
I	espessamento mucoso por edema; criptas alongadas de base dilatada; degeneração celular epitelial focal; exsudato polimorfonuclear, edema, hemorragia e dilatação linfática no córion; muscular da mucosa dissociada por edema; edema, dilatação, congestão vascular, marginação leucocitária na submucosa.
II	mucosa adelgada; criptas encurtadas de base dilatada; degeneração celular epitelial; realce das fibras colágenas na submucosa (por edema e tumefação das fibras).
III	mucosa com extenso desaparecimento de criptas; criptas remanescentes isoladas; presença de pseudomembranas fibrino-leucocitárias em áreas de erosão do epitélio de superfície sem depressão; exsudato polimorfonuclear, hemorragia recente.
IV	mucosa com ulceração superficial (profundidade túnica mucosa); aspecto hialino homogêneo da mucosa (áreas de desaparecimento de criptas); exsudato polimorfonuclear e hemorragia acentuados na submucosa.
V	ulceração profunda (atinge túnica submucosa); restos celulares necróticos desprendendo-se para a luz; ilhas de mucosa inflamada; exsudato polimorfonuclear acentuado na submucosa; desaparecimento da muscular da mucosa; edema e exsudato polimorfonuclear na camada muscular própria; tecido conjuntivo proliferado na submucosa com início de organização (proliferação de vasos capilares, fibroblastos e infiltrado monomorfonuclear).
VI	ulceração profunda (atinge túnica muscular própria); fragmentos de tecido necrótico e exsudato fibrino-leucocitário descamados para a luz; tecido de granulação na submucosa.

4.4 AVALIAÇÃO DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA

Existe consenso que para a avaliação da translocação bacteriana sejam pesquisadas as bactérias de contaminação fecal e dentre muitas a *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* são as indicadoras da ocorrência deste processo ³⁰.

4.4.1 Preparação das amostras

As amostras obtidas conforme descrito no item 4.2.4, seguiram as seguintes etapas de preparação:

- Trituração de cada órgão separadamente, sobre tela de nylon esterilizada com 20 μ de porosidade;
- Diluição do macerado em 5ml de água peptonada a 10%;
- Semeados em duplicatas 1ml desta solução nos meios de cultura específicos para o cultivo e identificação bacteriana.

4.4.2 Meios de cultura empregados

4.4.2.1 Isolamento e identificação de *Escherichia coli*

Foi empregado como meio seletivo e indicador o Caldo Lactosado com indicador de pH - Vermelho de Metila. Após incubação e viragem de pH, utilizou-se Agar Eosina Azul de Metileno Teague - Biobrás[®]) para seleção de colônias lactose-positivas que eram evidenciadas pela coloração verde-metálica, típica de *Escherichia coli* neste meio de cultivo. Estas colônias eram então repicadas para o meio de Pessoa e Silva para identificação final.

4.4.2.2 Isolamento e identificação de *Enterococcus faecalis*

Utilizou-se o Kenner Fecal Streptococcus Agar (DIFCO[®]) suplementado com Cloreto de Trifeniltetrazolium (Merck[®] artigo 12.340).

4.4.3 Cultivo, isolamento e identificação de bactérias

As amostras foram incubadas a 37°C por 48 horas, sendo a seguir selecionadas as culturas positivas e repicadas em meios para seleção primária de colônias e novamente incubadas a 37°C por 24 horas.

4.4.3.1 Cultivo, isolamento de *Escherichia coli*

Após a incubação seguiu-se as seguintes etapas:

- As culturas positivas em Caldo Lactosado foram repicadas para Agar Eosina Azul de Metileno;
- As amostras que não demonstraram crescimento nas primeiras 48 horas, foram incubadas até o 7º dia para comprovação da negatividade;
- Ao término das incubações, as colônias típicas de *Escherichia coli* foram repicadas para o meio de Pessoa e Silva para identificação final.

4.4.3.1 Cultivo, isolamento de *Enterococcus faecalis*

- As culturas positivas em Kenner Fecal Streptococcus foram repicadas para Caldo Simples;
 - As amostras que não demonstraram crescimento nas primeiras 48 horas, foram incubadas até o 7º dia para comprovação da negatividade;
 - Ao término das incubações, as colônias típicas de *Enterococcus faecalis* em Caldo Simples foram submetidas à prova da catalase para caracterização do gênero *Enterococcus*;
 - Posteriormente as colônias foram submetidas à hidrólise da esculina, sendo assim caracterizadas as amostras de *Enterococcus faecalis*.
-

4.5 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Para a avaliação estatística foram aplicados os testes abaixo descritos utilizando-se como referência para significância estatística um valor de $p > 0,05$.

4.5.1 Histologia

Após a obtenção das aferições histológicas dos grupos submetidos a colite, em uma primeira etapa de cálculos, transformou-se a escala nominal dos achados histológicos, em escala numérica pela correlação, em escala pré-determinada representada na figura 3¹⁵.

Figura 3: Demonstrativo das escalas para transformação dos valores nominais das alterações histológicas em valores numéricos.

Escala 1	(0) I	(1) II	(2) III	(3) IV	(4) V	(5) IV
Escala 2	(0) I	(4) II	(8) III	(12) IV	(16) V	(20) IV

Para obter os valores da Escala 2, tomou-se os fatores 4 e 5 nas paralelas da Escala 1 e permutou-se o produto destes pelos valores atribuídos de 0 a 5 e 0 a 4 respectivamente.

A partir desses novos valores obteve-se médias histológicas numéricas, representativas das alterações microscópicas observadas nos fragmentos colônicos.

Realizou-se a análise entre os grupos para verificar se estas médias histológicas apresentavam diferenças significativas entre eles.

O teste de maior eficiência para comparação dos grupos é a Análise de Variância, que para seu emprego é necessária a averiguação das hipóteses:

- a) Homocedasticidade: homogeneidade das variâncias;
- b) Distribuição normal: é o que se espera dos dados;
- c) Os dados devem ser independentes.

4.5.2 Translocação Bacteriana

Para a verificação da existência de um ou mais órgãos, que sofreram translocação bacteriana independentemente da bactéria isolada, que se diferenciam dos demais, ou seja, para verificar se a hipótese H_0 de que todos os órgãos são semelhantes entre si, contra a hipótese H_A , a hipótese alternativa, de que pelo menos um dos órgãos se diferencia dos demais, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ⁸².

A justificativa para o uso do teste não paramétrico firma-se na não necessidade de averiguação das pressuposições.

O procedimento para aplicação deste teste, resume-se em:

- 1- Dispor, em postos, as observações de todos os k grupos em uma única série, atribuindo-lhes postos de 1 a N.
- 2- Determinar o valor de R (soma dos postos) para cada um dos k grupos de postos.
- 3- Calcular a estatística H, pela fórmula:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

- 4- Se a probabilidade associada ao valor observado de H não supera o nível de significância estipulado, se rejeita a H_0 em favor de H_A .

Para proceder a análise da verificação de translocação bacteriana, realizou-se estudo da ocorrência de translocação de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* para os órgãos estudados, considerando-se positiva a translocação bacteriana com a identificação de uma ou as duas bactérias nas culturas de órgãos.

Uma vez que se faz a comparação de dois grupos independentes e o nível de mensuração dos dados é nominal (positivo(+)) e negativo(-)), foi utilizado o teste de Fisher ⁸² que é o mais indicado.

Este teste constitui uma técnica não-paramétrica extremamente útil para analisar dados discretos e é utilizado quando os resultados das duas amostras aleatórias independentes se enquadram todos em uma ou outra, de duas classes mutuamente exclusivas. Em outras palavras, a cada animal em ambos os grupos é atribuído um dentre dois resultados possíveis. Os resultados são representados por frequência conforme representados na tabela 3.

Tabela 3: Modelo para o cálculo da frequência de contingências por grupos estudados

	-	+	Total
Grupo I	A	B	A+B
Grupo II	C	D	C+D
	A+C	B+D	N

A probabilidade de observar determinado conjunto de frequências em uma tabela 2 X 2, quando se consideram fixos os totais marginais, é dada pela distribuição hipergeométrica:

$$p = \frac{\binom{A+C}{A} \binom{B+D}{B}}{\binom{N}{A+B}} = \frac{(A+B)!(C+D)!(A+C)!(B+D)!}{N!A!B!C!D!}$$

Isto é, obtém-se a probabilidade da ocorrência observada calculando-se a razão do produto dos fatoriais dos quatro totais marginais para o produto dos fatoriais das frequências das células pelo fatorial de N.

Foram testadas as Hipóteses de Nulidade H_0 de que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos, contra H_A , a hipótese de que há diferença entre os grupos, testados dois a dois.

5 Resultados

No período de realização deste estudo não ocorreram óbitos dos animais em experimentação. O dispositivo distribuidor de CO₂, que proporcionou a realização de pneumoperitônio simultaneamente em 10 animais, facilitou a execução deste procedimento, sem intercorrências.

Durante o pneumoperitônio os animais não necessitaram de respiração assistida. Após o procedimento os ratos apresentavam manutenção do estado geral, atividade física e disposição para alimentarem-se.

Quando da coleta das amostras de órgãos abdominais, não se observou em nenhum animal, sinal de perfuração visceral relacionada as punções abdominais ou colite.

5.1 COMPROVAÇÃO HISTOLÓGICA

Os resultados obtidos das avaliações histológicas das amostras colônicas dos grupos submetidos à colite, confirmaram a efetividade da instilação de ácido acético a 10% por via retal, na indução do modelo experimental de colite, como se observa na figura 4, e após aferição histológica obtiveram-se valores nominais, os quais foram transformados em valores numéricos por correlação em escala pré-determinada. Em seguida, foram calculadas as médias histológicas para cada grupo dos animais submetidos à colite induzida, como estão demonstradas na tabela 4.

Figura 4: Fotomicrografia do tecido colônico no 7º dia após indução do processo inflamatório pelo ácido acético a 10%: 1- úlcera de mucosa; 2- necrose coagulativa da mucosa; 3- edema de submucosa (Hematoxilina - Eosina, ampliação 20X)

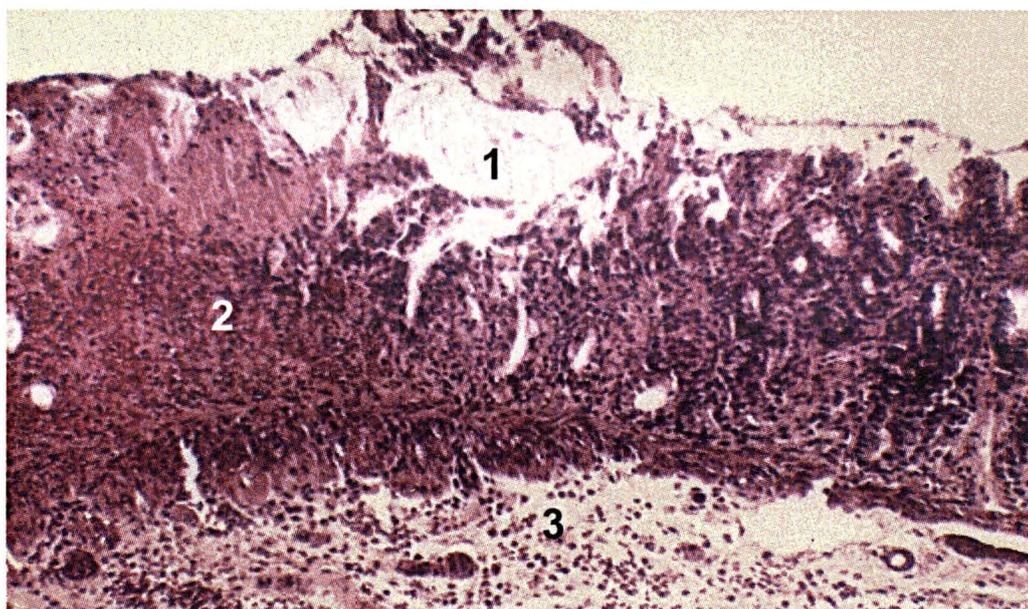


Tabela 4: Representação dos valores nominais, numéricos e média histológica dos animais no 7º dia da colite induzida dos grupos COL, COLPP1 e COLPP3.

Grupo	Número de animais	Gradação histológica	Transformação numérica	Média histológica
Grupo Colite COL	1	I	0	15,6
	1	II	4	
	1	IV	12	
	7	VI	20	
Grupo Colite Pneumoperitônio 1 hora - COLPP1	2	II	4	16,0
	2	V	16	
	6	VI	20	
Grupo Colite Pneumoperitônio 3 horas - COLPP3	1	II	4	16,4
	1	III	8	
	2	V	16	
	6	VI	20	

Na averiguação das hipóteses para a aplicação da Análise de Variância obteve-se os seguintes resultados:

- a) Homocedasticidade: homogeneidade das variâncias (tabela 5);

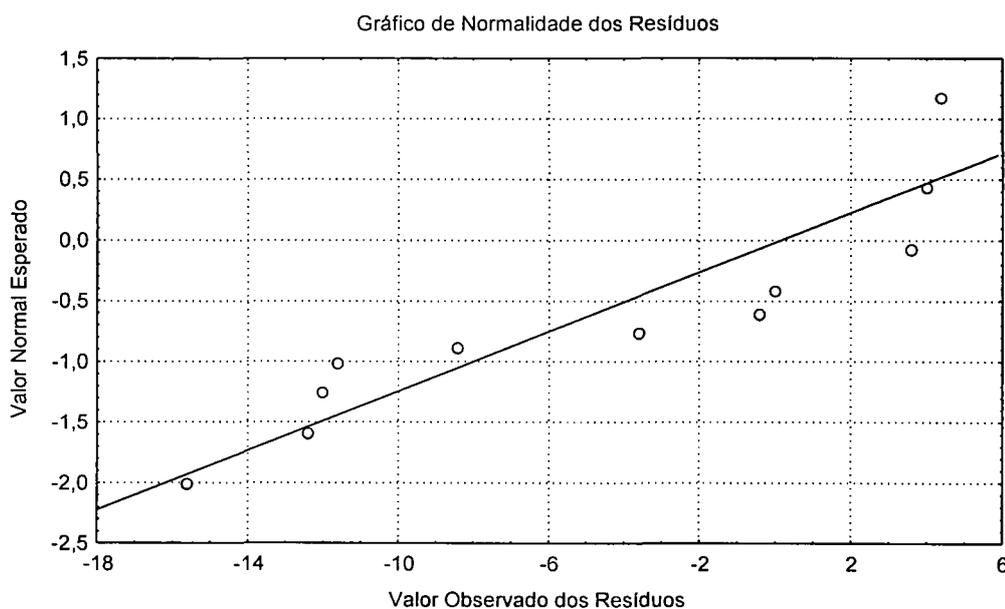
Tabela 5: Resultados dos testes de homogeneidade das variâncias das médias histológicas

	Hartley	Cochran	Bartlett		
	Estatística F	Estatística C	Estatística χ^2	Grau de liberdade	p-valor
VALOR	1,740741	0,434037	0,666989	2	0,716418

Com o valor de $p = 0,7164$ não se rejeita a hipótese de que os três grupos tenham variância constante.

- b) Distribuição normal: é o que se espera dos dados. Para tal averiguação pode-se utilizar o gráfico de normalidade dos resíduos das médias histológicas (gráfico 1);

Gráfico 1: Representação gráfica de normalidade dos resíduos das médias histológicas



No gráfico 1 pode-se observar que há uma distribuição normal dos dados, pelos pontos estarem próximos à reta.

• c) Os dados devem ser independentes: o próprio delineamento garante esta pressuposição, uma vez que os ratos são sacrificados.

Uma vez que as principais hipóteses foram verificadas, foi aplicado o teste da Análise de Variância (ANOVA), obtendo-se os valores representados na tabela 6.

Tabela 6: Resultados do teste da Análise de Variância (ANOVA) das médias histológicas

	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Estatística F	Valor de p
Efeitos	1,600000	2	0,035620	0,965052
Resíduos	44,91852	27	-	-

Não ocorreu evidência estatística entre as diferenças das médias histológicas dos grupos de animais submetidos à colite ($p=0,9651$).

5.2 COMPROVAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Os resultados obtidos foram listados em tabelas analisando cada animal individualmente, segundo achados microbiológicos em cada órgão pesquisado, tendo valor positivo (+) quando houve translocação bacteriana ou negativo (-) quando esta não ocorreu. Estes resultados se encontram representados nos anexos 1, 2, 3 e 4.

Analisando cada rato isoladamente organizou-se a tabela 7, que representa o número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana em cada grupo, dentre os quatro órgãos estudados, sem considerar o gênero bacteriano isolado.

Tabela 7: Representação do número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana por rato

Rato	Simulação	PP1	PP3	COL	COLPP1	COLPP3
1	1	1	3	2	3	3
2	0	3	3	2	3	3
3	1	4	4	1	4	4
4	0	3	3	2	4	4
5	0	4	4	2	3	3
6	0	4	3	4	4	4
7	1	2	4	2	4	4
8	0	4	3	2	4	4
9	0	3	3	2	2	2
10	0	3	4	2	3	4

Com relação ao número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana, pode-se afirmar que o grupo simulação apresentou média de 0,3 órgãos com translocação bacteriana por animal, o grupo PP1 3,1, o grupo PP3 3,4, o grupo COL 2,1, o grupo COLPP1 e COLPP3 3,5, valores estes que estão representados na gráfico 2 e na tabela 8 juntamente com seus respectivos intervalos de confiança (95%), variância e desvio padrão.

Gráfico 2: Representação gráfica da média do número de órgãos que apresentaram translocação bacteriana em cada grupo

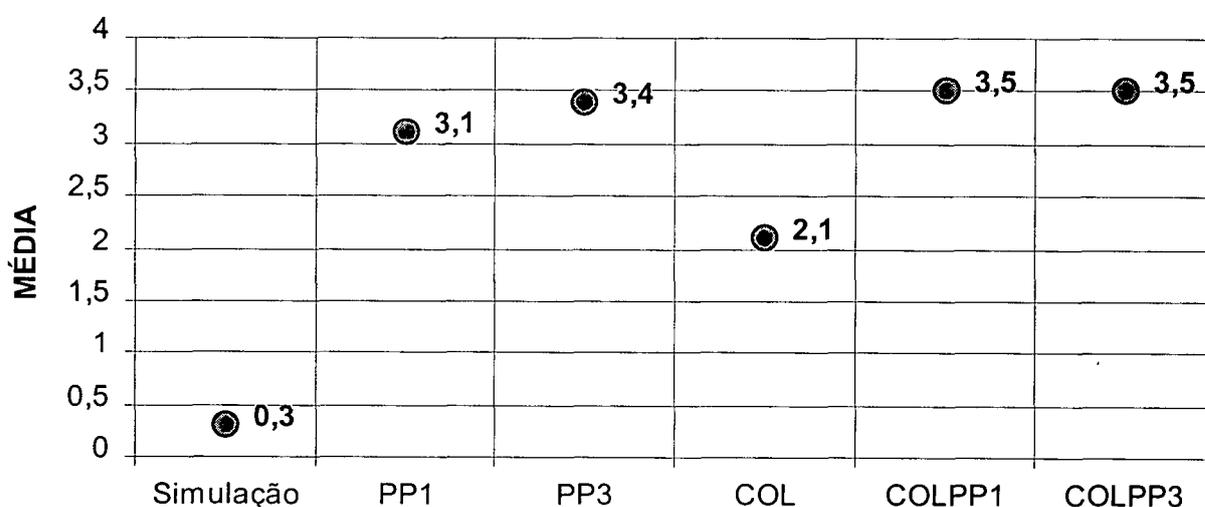
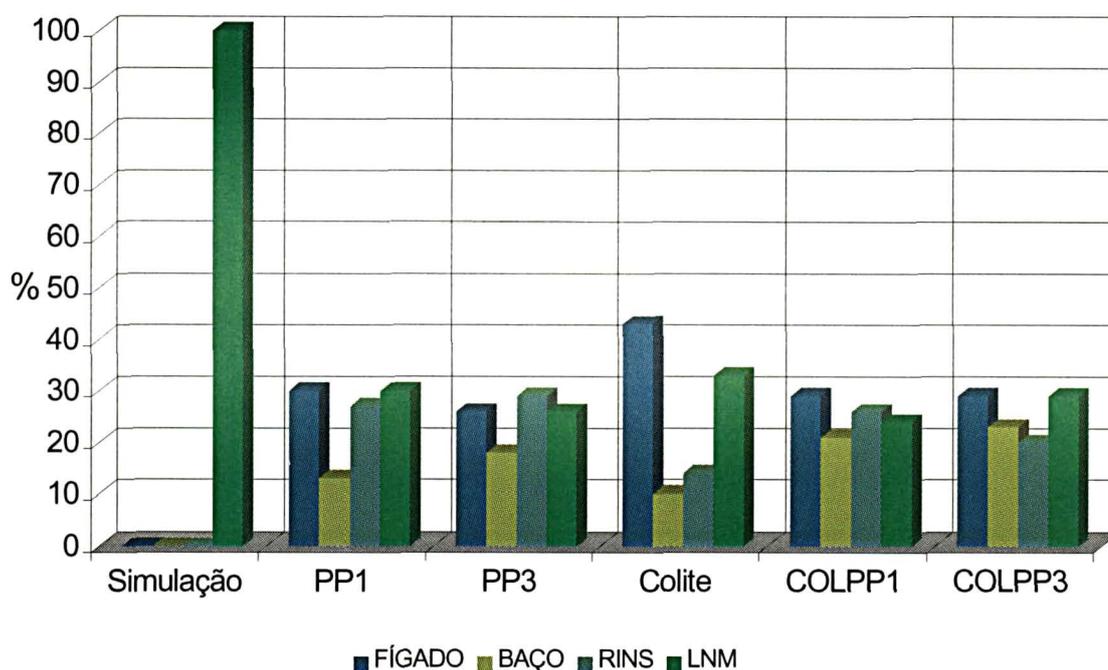


Gráfico 3: Representação gráfica do percentual de ocorrência de translocação bacteriana por órgão, sem considerar o gênero de bactéria indicadora isolada

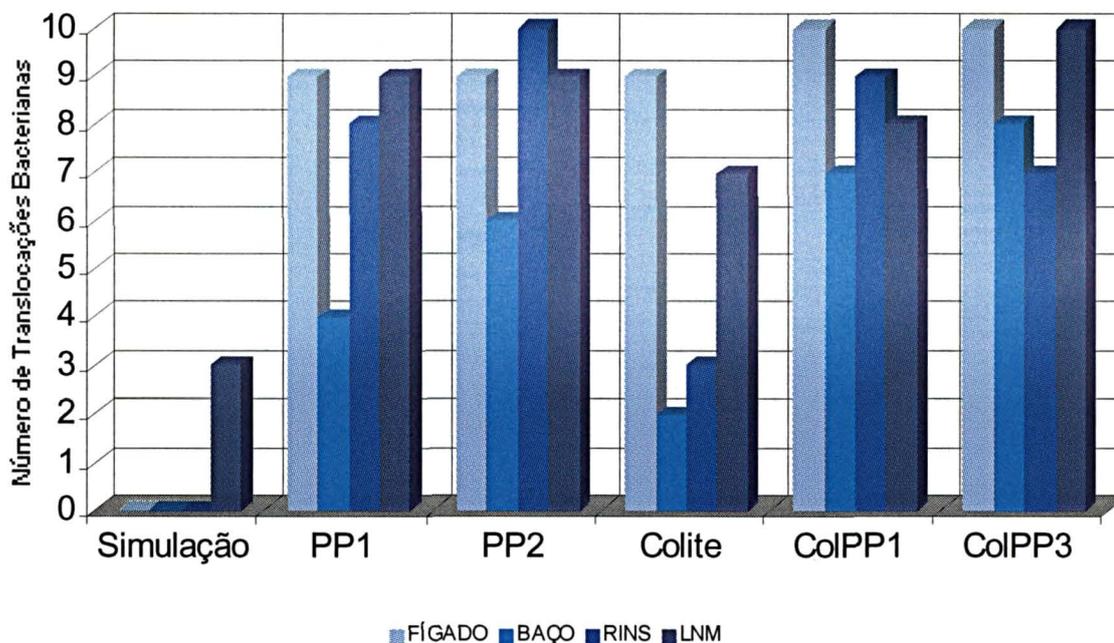


Observando o gráfico 3 faz-se a suposição que, das translocações ocorridas, apenas com a aplicação do pneumoperitônio, foram encontradas maior percentual de translocações para linfonodos mesentéricos, em seguida para fígado, rins e em menor percentual para baço, enquanto que, após a indução de colite, o fígado foi a víscera que apresentou maior percentual de translocações, seguido alternativamente dos rins ou linfonodos mesentéricos. O percentual de ocorrência nas translocações mensuradas no baço mantiveram-se constante.

Tabela 10: Ocorrência de translocação bacteriana, independente do gênero de bactéria indicadora isolada nos diferentes órgãos

AMOSTRAS	Simulação	PP1	PP3	COL	COLPP1	COLPP3
FÍGADO	0	9	9	9	10	10
BAÇO	0	4	6	2	7	8
RINS	0	8	10	3	9	7
LNM	3	9	9	7	8	10
TOTAL	3	30	34	21	34	36

Gráfico 4: Representação gráfica da ocorrência de translocação bacteriana, independente do gênero de bactéria indicadora isolada nos diferentes órgãos



Analisando-se o gráfico 4 e a tabela 10, supõem-se que no fígado ocorra maior translocação bacteriana quando da combinação de pneumoperitônio com a colite induzida, enquanto que sem a indução de colite, é no linfonodo mesentérico que observa-se maior número de bactérias translocadas.

Para se comprovar as suposições anteriormente aludidas utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, representados na tabela 11.

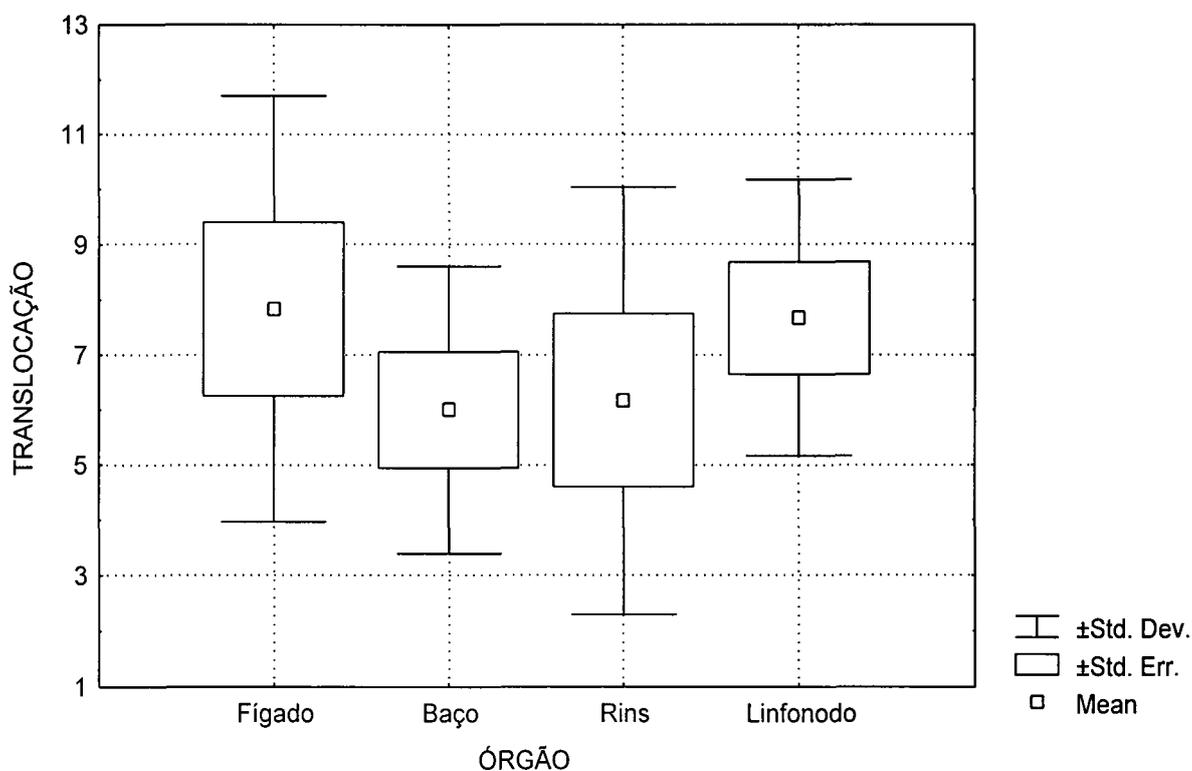
Tabela 11: Resultados da análise estatística da ocorrência de translocação bacteriana nos órgãos utilizando o teste de Kruskal-Wallis:

Órgão	Tamanho da amostra N	Soma Ranks
FÍGADO	6	97,50000
BAÇO	6	54,00000
RINS	6	66,50000
LNM	6	82,00000

Estatística H (3, N= 24) = 3,683382 p=0,2978

O valor de $p=0,2978$, não rejeita a suposição de que nenhum dos órgãos apresenta diferença significativa em relação aos demais, quanto à ocorrência de translocação bacteriana. Esta afirmação pode ser observada no gráfico 6.

Gráfico 5: Representação gráfica das médias de translocação bacteriana por órgão



Para a análise estatística, foi aplicado o teste de Fisher, entre os grupos de animais estudados. Utilizaram-se as tabelas apresentadas nos anexos 1, 2, 3 e 4, de onde foram extraídas as freqüências de translocação bacteriana por grupos, para comporem as tabelas de contingências 2x2, a seguir apresentadas.

Tabela 12: Freqüência de translocação bacteriana dos grupos Simulação x PP1

	-	+	Total
Simulação	37	3	40
PP1	9	31	40
	46	34	80

Tabela 13: Frequência de translocação bacteriana dos grupos Simulação x PP3

	-	+	Total
Simulação	37	3	40
PP3	6	34	40
	41	37	80

Tabela 14 : Frequência de translocação bacteriana dos grupos Colite x COLPP1

	-	+	Total
Colite	19	21	40
COLPP1	6	34	40
	25	55	80

Tabela 15: Frequência de translocação bacteriana dos grupos Colite x COLPP3

	-	+	Total
Colite	19	21	40
COLPP3	5	35	40
	24	56	80

Os resultados das análises estatísticas para obterem-se os valores de p , quando da comparação entre os grupos quanto à aplicação do pneumoperitônio, estão contidas nos anexos 5 a 8 e resumidas na tabela 16.

Tabela 16: O valor de p obtido pelo Teste de Fisher da comparação dos grupos quanto a aplicação de pneumoperitônio

Grupos	p-valor (Teste Fisher)	Decisão
Simulação X PP1	0,0000	Rejeita H_0
Simulação X PP3	0,0000	Rejeita H_0
Colite X COLPP1	0,0017	Rejeita H_0
Colite X COLPP3	0,0006	Rejeita H_0

Verifica-se na tabela 16, a rejeição da hipótese de nulidade de que o grupo de animais com a aplicação do pneumoperitônio fosse igual ao grupo sem a aplicação e portanto, pode-se afirmar, com os valores de p obtidos pelo teste de Fisher bilateral, que os grupos são diferentes, podendo-se então afirmar que o pneumoperitônio incrementa a translocação bacteriana, tanto em ratos normais como em ratos com colite induzida.

Para a análise estatística da variação do tempo de pneumoperitônio a que foram submetidos os animais, aplicou-se o teste de Fisher e utilizaram-se as tabelas apresentadas nos anexos 2 e 3, de onde foram extraídas as freqüências de translocações bacterianas por grupos, para comporem as tabelas de contingências 2x2, a seguir apresentadas.

Tabela 17: Freqüência de translocação bacteriana dos Grupos PP1 x PP3

	-	+	Total
PP1	9	31	40
PP3	6	34	40
	15	65	80

Tabela 18: Freqüência de translocação bacteriana dos Grupos COLPP1 x COLPP3

	-	+	Total
COLPP1	6	34	40
COLPP3	5	35	40
	11	69	80

Os resultados das análises estatísticas para obterem-se os valores de p, quando da comparação entre os grupos nos diferentes tempos (1 e 3 horas) de aplicação do pneumoperitônio, estão contidas nos anexos 9 e 10 e resumidas na tabela 19.

Tabela 19: O valor de p obtido pelo Teste de Fisher da comparação dos grupos quanto aos diferentes tempos, uma e três horas de pneumoperitônio

Grupos	p-valor (Teste Fisher)	Decisão
PP1 X PP3	0,5679	Não rejeita H ₀
COLPP1 X COLPP3	1,0000	Não rejeita H ₀

Verifica-se, com os respectivos valores de p obtidos pelo teste de Fisher bilateral, a hipótese de nulidade de que a ocorrência de translocações bacterianas, tanto em ratos normais quanto em ratos com colite induzida, não apresenta diferença significativa, em 1 e 3 horas de ação do pneumoperitônio.

6 Discussão

6.1 MODELO ANIMAL

Tradicionalmente os animais como cães e porcos são utilizados nos experimentos que pesquisam a cirurgia laparoscópica, devido a seu porte, os instrumentos utilizados são os mesmos que os usados em humanos^{13,78}, porém, em nosso meio, encontram-se obstáculos, como custos e dificuldades para alojamento destes animais. Neste experimento optou-se pela utilização de ratos (*Rattus norvegicus*), os quais sabidamente também são utilizados em experimentos de cirurgia laparoscópica e pesquisa de translocação bacteriana^{11,42,52,76}. Devido ao seu pequeno porte, torna-se possível seu alojamento em ambiente laboratorial e a possibilidade de dispô-los em quantidades estatisticamente adequadas para estes estudos.

6.2 MODELO EXPERIMENTAL DE COLITE INDUZIDA

Para a obtenção do modelo experimental de translocação bacteriana, diferentes métodos têm sido propostos com resultados por vezes semelhantes. Optou-se neste estudo pela utilização do modelo de colite induzida pelo ácido acético a 10%, proposto por MACPHERSON e PFEIFFER em 1978⁵⁸, e por ter sido amplamente utilizado em nosso meio por MORAES⁶⁵, ANDRIGUETTO⁶, BORDON DE CORVALÁN¹⁴, HAJAR⁴⁹ e também, por estar comprovada sua similaridade nos achados histológicos e bioquímicos com a colite em humanos, segundo os relatos de SHARON e STENSON⁸⁰.

No presente estudo, as amostras de segmento de cólon dos animais induzidos com colite e submetidas à avaliação histológica (grupos COL, COLPP1 e COLPP3), comprovaram sua indução de acordo à graduações histológicas descritas na tabela 4.

As avaliações bacteriológicas das vísceras dos animais submetidos a colite, comprovaram que o modelo experimental foi efetivo quanto a translocação bacteriana, com resultados que se comparam aos encontrados por GARDINER et al.⁴⁶ e REPKA et al.⁷⁰.

6.3 PRESSÃO INTRA-ABDOMINAL

Em humanos é sabido que pressões intra-abdominais entre 8 a 12mmHg, decorrentes da insuflação de CO₂, são adequadas para a realização de procedimentos laparoscópicos, com alterações pouco significativas, da função respiratória, equilíbrio ácido básico e hemodinâmico durante o ato operatório, ⁵¹.

Pressão acima de 15mmHg, provoca depressão respiratória, e diminuição em 44% do fluxo sangüíneo hepático e 39% no cólon de pacientes submetidos a pneumoperitônio ⁷⁷. Estas alterações têm como conseqüência o aumento das taxas de mortalidade do ato operatório. Em ratos, a pressão abdominal de 15mmHg ocasiona depressão respiratória, que associada aos efeitos das drogas anestésicas, podem levar a choque circulatório e acidose respiratória que geralmente é fatal pela dificuldade em proceder a intubação endotraqueal do animal e mantê-lo sob respiração assistida ⁷⁶.

Neste estudo utilizou-se a pressão intra-abdominal de 10mmHg, servindo-se dos resultados determinados por BERGUER et al. ¹¹ em 1997, que avaliaram as alterações decorrentes da pressão intra-abdominal de ratos, que sofreram insuflação de CO₂, com pressões de 2, 5, 10 e 15 mmHg. Estes autores verificaram as variações de pressão arterial, pH do sangue arterial, pCO₂, pO₂ e bicarbonato, além do débito cardíaco e temperatura sangüínea e determinaram que a pressão intra-abdominal adequada, para se manter ratos em respiração espontânea, é a de 10mmHg.

6.4 TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA

O intestino devido à sua flora microbiana diversificada, ocupa importante posição na pesquisa da translocação bacteriana, e vem tornando-se área de intensa investigação. A translocação de bactérias e endotoxinas é postulada como parte do mecanismo fisiológico de processamento e apresentação antigênica, sendo esta, parte essencial da resposta imune dos tecidos. As conseqüências podem ser diferentes em pacientes imunocomprometidos ou naqueles portadores de outros estados críticos, cujo nível fisiológico de translocação, pode ser suficiente para o

desenvolvimento de infecção sistêmica. Da intensidade da translocação depende a ocorrência de infecções que podem evoluir até ao choque séptico³⁰.

O intestino também atende fisiologicamente distintas funções como: digestão, absorção, secreção e atua como barreira, cuja mucosa permite a passagem seletiva de nutrientes para a circulação, enquanto mantém-se a proteção contra a absorção de partículas luminais e substâncias, como bactérias e suas toxinas⁹². A função imune intestinal, que inibe a aderência de patógenos luminais na superfície celular, como passo inicial na prevenção da invasão de células da superfície epitelial¹², que é normalmente impedida por mecanismos de defesa específicos, como a secreção de IgA¹⁶ e não específicos, como acidez gástrica, peristalse, muco, antagonismo bacteriano e descamação tecidual. Acrescidos a estes, as bactérias anaeróbias normais, formam velo na superfície da mucosa, e sua presença tem sido relacionada à estabilidade e confinamento das bactérias aeróbias gram-negativas no trato intestinal⁵.

Apesar da população de bactérias anaeróbias ser maior que as aeróbias na luz intestinal, como regra estas, não translocam através do intestino normal, e se o fizerem, atingirão sistemas ricos em oxigênio, que não permitem sua sobrevivência ou são fagocitadas³³.

Pouco tem sido pesquisado em relação aos mecanismos pelos quais as bactérias presentes no lúmen intestinal alcançam os nódulos linfáticos mesentéricos e outros tecidos. No entanto, vários mecanismos são propostos: a impermeabilidade das membranas celulares, a estreita junção entre as células mucosas⁴⁴ e a hipótese do transporte fagocítico⁹⁰. Ainda, existem múltiplas vias descritas para a translocação bacteriana: migração retrógrada para pulmões, migração transmural direta através da parede intestinal e migração para linfonodos mesentéricos e/ou fígado através das vias linfática ou vascular, e a concomitância de mais de uma destas vias poderá ocorrer^{89,90}.

A mucosa intestinal sofre lesão devido a reperfusão sangüínea após isquemia temporária, por hipoxia tecidual¹⁰¹. Muitos mecanismos tentam justificar estas lesões, mas parecem ser duas as mais aceitas: teoria do estresse oxidativo e a ativação da fosfolipase A₂. Estes mecanismos fariam o acúmulo e ativação de

neutrófilos na mucosa intestinal. Estas células seriam as responsáveis pela severidade da lesão na mucosa, que propiciariam a translocação bacteriana ⁷⁹.

O aumento da pressão intra-abdominal, por qualquer mecanismo, como síndrome compartimental, insuflação de gás na cavidade abdominal, distensão de vísceras abdominais, produzem isquemia dos órgãos intracavitários e parede abdominal, por compressão vascular que leva à alterações hemodinâmicas no sistema esplâncnico e de irrigação da parede intra-abdominal ^{17,39,56}.

Os estudos de ELEFTHERIADIS et al. ⁴² demonstram que sob pressão intra-abdominal de 15mmHg, por 60 minutos, ocorre modificação na microcirculação intestinal. DIEBEL et al. ^{38,40} e ISHIZAKI et al. ⁵⁰ relataram diminuição na perfusão sangüínea de órgãos intra-abdominais, quando induziram pressão abdominal entre 10 e 16mmHg.

ELEFTHERIADIS et al. ⁴², GARGIULO et al. ⁴⁷, DIEBEL et al. ³⁷ e TUG et al. ⁸⁸, evidenciaram translocação bacteriana em animais sob pneumoperitônio. No presente estudo, o pneumoperitônio com 10mmHg de CO₂, por 1 ou 3 horas, foi fator decisivo na indução de translocação bacteriana quer em animais normais, como em animais induzidos com colite (tabela 16). Contudo não evidenciaram-se estatisticamente, diferenças entre a magnitude de translocação bacteriana, indicada pelo número de vísceras translocadas, entre os grupos insuflados com CO₂ por 1 ou 3 horas (tabela 19). Estes resultados corroboram os achados de TUG et al. ⁸⁸, que tampouco observaram diferenças entre tempos distintos de duração do pneumoperitônio na indução de translocação bacteriana.

É de conhecimento que o trato gastrointestinal de roedores normais contém inúmeras espécies de bactérias, no entanto, poucas destas são observadas na translocação para nódulos linfáticos mesentéricos e outros órgãos. As enterobactérias, principalmente *Escherichia coli*, os *Streptococcus* como o *Enterococcus faecalis* e *Lactobacilos* são freqüentemente isolados nos modelos de indução de translocação bacteriana. Outros microrganismos, tais como, *Pseudomonas*, anaeróbios e leveduras translocam, mas parecem fazê-la somente em circunstâncias não usuais ⁹⁰. As espécies observadas em estudos anteriores como tipos dominantes na translocação, são a *Escherichia coli* e o *Enterococcus faecalis*,

sendo consideradas como indicadores de contaminação de flora cecal³⁰ e adotadas neste estudo como tais (tabela 9).

É evidente que a experimentação animal tem sido marcante na avaliação de certos procedimentos durante toda a evolução das Ciências Médicas. Neste contexto, estudos que possam contribuir para a implementação da técnica cirúrgica laparoscópica, possivelmente trarão em conjunto redirecionamentos nas condutas atinentes. O pneumoperitônio por CO₂, tem sido alvo de intensos questionamentos, face às complicações relatadas em certas situações, sejam complicações sépticas ou hemodinâmicas. Assim sendo, translocação bacteriana em animais portadores de colite induzida e em normais, ambos sob pneumoperitônio por CO₂, confirma o risco que este procedimento conduz. Alternativamente SMITH et al.⁸³, propuseram recentemente a prática da cirurgia videolaparoscópica sem o uso de pneumoperitônio, tendo sucesso no grupo de pacientes por eles estudados. É também consenso destes autores que tanto os instrumentos cirúrgicos como o próprio método, sejam motivo de seqüentes estudos, pois a ausência da insuflação da cavidade abdominal com CO₂, somente poderá contribuir para a diminuição da morbidade desta técnica cirúrgica.

Os resultados deste trabalho apontam para a execução de estudos da prevenção de ocorrência de infecções conseqüentes à translocação bacteriana, entre estes, a profilaxia antimicrobiana.

7 Conclusões

Após análise dos resultados pode-se concluir que:

1. Houve indução de translocação bacteriana em ratos normais em decorrência de pneumoperitônio de CO₂ sob pressão média de 10mmHg.
 2. Houve incremento de translocação bacteriana em ratos submetidos a colite induzida em decorrência de pneumoperitônio de CO₂ sob pressão média de 10mmHg.
 3. Não houve incremento de translocação bacteriana em ratos normais em decorrência de pneumoperitônio de CO₂ sob pressão média de 10mmHg por 1 ou 3 horas de duração.
 4. Não houve incremento de translocação bacteriana em ratos submetidos a colite induzida em decorrência de pneumoperitônio de CO₂ sob pressão média de 10mmHg por 1 ou 3 horas de duração.
-

Anexo 1: Frequência da translocação bacteriana no grupo simulação (S), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado

AMOSTRA		<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
RATO 1	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	+	+
RATO 2	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 3	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	+	+
RATO 4	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 5	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 6	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 7	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	+	+
RATO 8	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 9	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 10	FÍGADO	-	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-

Anexo 2: Frequência da translocação bacteriana no grupo pneumoperitônio (PP), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado em 1 e 3 horas

AMOSTRA		1 HORA		3HORAS	
		<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
RATO 1	FÍGADO	-	-	+	-
	BAÇO	-	-	+	-
	RINS	-	-	+	-
	LNM	-	+	-	-
RATO 2	FÍGADO	+	-	+	-
	BAÇO	-	-	-	-
	RINS	+	-	+	-
	LNM	+	+	+	+
RATO 3	FÍGADO	+	+	-	+
	BAÇO	+	-	-	+
	RINS	+	-	-	+
	LNM	+	+	+	+
RATO 4	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	-	-	-	-
	RINS	+	-	+	-
	LNM	-	+	-	+
RATO 5	FÍGADO	+	-	+	+
	BAÇO	+	+	+	+
	RINS	+	+	+	+
	LNM	+	+	+	+
RATO 6	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	+	-	-	-
	RINS	+	-	+	-
	LNM	+	+	+	+
RATO 7	FÍGADO	-	+	+	+
	BAÇO	-	-	+	+
	RINS	-	-	+	-
	LNM	+	+	+	+
RATO 8	FÍGADO	+	-	+	-
	BAÇO	+	+	-	-
	RINS	+	+	+	-
	LNM	+	+	+	+
RATO 9	FÍGADO	+	-	-	-
	BAÇO	-	-	-	+
	RINS	+	-	-	+
	LNM	-	+	+	+
RATO10	FÍGADO	+	-	+	+
	BAÇO	-	-	+	-
	RINS	+	-	+	-
	LNM	+	+	-	+

Anexo 3: Frequência da translocação bacteriana no grupo colite mais pneumoperitônio (COLPP), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado em 1 e 3 horas

AMOSTRA		1 HORA		3HORAS	
		E. faecalis	E. coli	E. faecalis	E. coli
RATO 1	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	-	-	+	-
	RINS	-	+	-	-
	LNM	+	-	+	+
RATO 2	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	-	-	-	+
	RINS	-	+	-	-
	LNM	-	+	+	-
RATO 3	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	+	+	+	-
	RINS	+	+	+	+
	LNM	+	+	+	+
RATO 4	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	+	+	+	+
	RINS	+	+	-	+
	LNM	-	+	+	+
RATO 5	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	-	+	-	-
	RINS	-	-	+	-
	LNM	+	+	+	+
RATO 6	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	-	+	+	-
	RINS	+	+	-	+
	LNM	-	+	+	+
RATO 7	FÍGADO	+	+	+	+
	BAÇO	+	+	+	+
	RINS	+	+	+	+
	LNM	+	+	+	+
RATO 8	FÍGADO	-	+	+	+
	BAÇO	+	+	-	+
	RINS	+	+	-	+
	LNM	-	+	+	+
RATO 9	FÍGADO	+	+	-	+
	BAÇO	-	-	-	-
	RINS	-	+	-	-
	LNM	-	-	+	+
RATO10	FÍGADO	+	-	+	+
	BAÇO	+	-	+	+
	RINS	+	-	-	+
	LNM	-	-	+	+

Anexo 4: Frequência da translocação bacteriana no grupo colite (COL), detalhado por rato e especificando em cada órgão o gênero bacteriano translocado

	AMOSTRA	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
RATO 1	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	+
RATO 2	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	+
RATO 3	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	-
RATO 4	FÍGADO	+	+
	BAÇO	-	-
	RINS	+	-
	LNM	-	-
RATO 5	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	-	+
RATO 6	FÍGADO	+	-
	BAÇO	+	-
	RINS	+	-
	LNM	+	-
RATO 7	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	+	-
RATO 8	FÍGADO	+	+
	BAÇO	-	-
	RINS	+	-
	LNM	-	-
RATO 9	FÍGADO	+	-
	BAÇO	-	-
	RINS	-	-
	LNM	+	+
RATO 10	FÍGADO	-	-
	BAÇO	+	-
	RINS	-	-
	LNM	+	+

Anexo 5: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos simulação e PP1

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	37,000	3,000	40,000
Percent of total	46,250%	3,750%	50,000%
Frequencies, row 2	9,000	31,000	40,000
Percent of total	11,250%	38,750%	50,000%
Column totals	46,000	34,000	80,000
Percent of total	57,500%	42,500%	
Chi-square (df=1)	40,100	p= ,0000	
V-square (df=1)	39,600	p= ,0000	
Yates corrected Chi-square	37,290	p= ,0000	
Phi-square	,501		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,0000	
two-tailed		p= ,0000	
McNemar Chi-square (A/D)	,370	p= ,5443	
Chi-square (B/C)	2,080	p= ,1489	

Anexo 6: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos simulação e PP3

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	37,000	3,000	40,000
Percent of total	46,250%	3,750%	50,000%
Frequencies, row 2	6,000	34,000	40,000
Percent of total	7,500%	42,500%	50,000%
Column totals	43,000	37,000	80,000
Percent of total	53,750%	46,250%	
Chi-square (df=1)	48,320	p= ,0000	
V-square (df=1)	47,720	p= ,0000	
Yates corrected Chi-square	45,250	p= ,0000	
Phi-square	,604		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,0000	
two-tailed		p= ,0000	
McNemar Chi-square (A/D)	,060	p= ,8124	
Chi-square (B/C)	,440	p= ,5050	

Anexo 7: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COL e COLPP1

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	19,000	21,000	40,000
Percent of total	23,750%	26,250%	50,000%
Frequencies, row 2	6,000	34,000	40,000
Percent of total	7,500%	42,500%	50,000%
Column totals	25,000	55,000	80,000
Percent of total	31,250%	68,750%	
Chi-square (df=1)	9,830	p= ,0017	
V-square (df=1)	9,710	p= ,0018	
Yates corrected Chi-square	8,380	p= ,0038	
Phi-square	,123		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,0017	
two-tailed		p= ,0033	
McNemar Chi-square (A/D)	3,700	p= ,0545	
Chi-square (B/C)	7,260	p= ,0071	

Anexo 8: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COL e COLPP3

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	19,000	21,000	40,000
Percent of total	23,750%	26,250%	50,000%
Frequencies, row 2	5,000	35,000	40,000
Percent of total	6,250%	43,750%	50,000%
Column totals	24,000	56,000	80,000
Percent of total	30,000%	70,000%	
Chi-square (df=1)	11,670	p= ,0006	
V-square (df=1)	11,520	p= ,0007	
Yates corrected Chi-square	10,060	p= ,0015	
Phi-square	,146		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,0006	
two-tailed		p= ,0012	
McNemar Chi-square (A/D)	4,170	p= ,0412	
Chi-square (B/C)	8,650	p= ,0033	

Anexo 9: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos PP1 e PP3

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	9,000	31,000	40,000
Percent of total	11,250%	38,750%	50,000%
Frequencies, row 2	6,000	34,000	40,000
Percent of total	7,500%	42,500%	50,000%
Column totals	15,000	65,000	80,000
Percent of total	18,750%	81,250%	
Chi-square (df=1)	,740	p= ,3902	
V-square (df=1)	,730	p= ,3931	
Yates corrected Chi-square	,330	p= ,5667	
Phi-square	,009		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,2839	
two-tailed		p= ,5679	
McNemar Chi-square (A/D)	13,400	p= ,0003	
Chi-square (B/C)	15,570	p= ,0001	

Anexo 10: Os resultados das análises estatísticas entre os grupos COLPP1 e COLPP3

	Column 1	Column 2	Totals
Frequencies, row 1	6,000	34,000	40,000
Percent of total	7,500%	42,500%	50,000%
Frequencies, row 2	5,000	35,000	40,000
Percent of total	6,250%	43,750%	50,000%
Column totals	11,000	69,000	80,000
Percent of total	13,750%	86,250%	
Chi-square (df=1)	,110	p= ,7454	
V-square (df=1)	,100	p= ,7470	
Yates corrected Chi-square	0,000	p=1,0000	
Phi-square	,001		
Fisher exact p, one-tailed		p= ,5000	
two-tailed		p=1,0000	
McNemar Chi-square (A/D)	19,120	p= ,0000	
Chi-square (B/C)	20,100	p= ,0000	

Referências Bibliográficas

1. 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.
 2. ALEXANDER, J. W.; McCLELLAN, B. S; OGLE C. K. et al. Consumptive opsoninopathy: possible pathogenesis in lethal and opportunistic infections. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 184, p. 672-678, 1976.
 3. ALVERDY, J. C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 14, p. 109S-113S, Jul.-Aug. 1990
 4. ALVERDY, J. C.; AOYS, E.; MOSS, G. S. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. **Surgery**, St. Louis, v. 104, n. 2, p. 185-190, Aug. 1998.
 5. ALVERDY, J.; AOYS, E. The effect of glucocorticoid administration on bacterial translocation: evidence for an acquired mucosal immunodeficient state. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 214, n. 6, p. 719-723, Dec. 1991.
 6. ANDRIGUETTO, P. C. **O uso do ômega 3 em ratos wistar submetido a colite induzida.** Curitiba, 1995. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) – Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná – Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.
 7. ARDEN, W. A.; YACKO, M. A.; JAY, M. et al. Scintigraphic evaluation of bacterial translocation during hemorrhagic shock. **J. Surg. Res.**, New York, v. 54, n. 2, p. 102-106, Feb. 1993.
 8. BACELAR Jr., J. C. S. **Avaliação do hidrato de cloral, cloridrato de cetamina/cloridrato de xilazina e tiopental sódico na anestesia em ratos.** Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) – Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná – Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.
 9. BAKER, J. W.; DEITCH, E. A.; BERG, R. D. et al. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. **J. Trauma**, Baltimore, v. 28, n. 7, p. 896-906, July 1988.
 10. BERG, R. D.; GARLINGTON, A. W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymphnodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. **Infec. Immun.**, Washigton, v. 23, n. 2, p. 403-411, Feb. 1979.
-

11. BERGUER, R.; CORNELIUS, T.; DALTON, M. The optimum pneumoperitoneum pressure for laparoscopic surgery in the rat model. **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, p. 915-918, 1997.
 12. BESREDKA, A. De la vaccination contre les étas typhoides par la voie buccale. **Ann. Inst. Pasteur**, Paris, v. 33, p. 882-903, 1919.
 13. BOHM, J. W.; MILSON, M. Animal models as educational tools in laparoscopic colorectal surgery. **Surg. Endosc.**, New York, v. 8, p. 707-713, 1994.
 14. BORDON DE CORVALÁN, A. C. **Suplementação dietética com glutamina em ratos Wistar submetido a colite induzida**. Curitiba, 1995. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 15. BOX, G.; HUNTER, W.; HUNTER, J. **Statistics for experimenter – an introduction to design date analysis and model building**, 1. Ed., New York, John Wiley & Sons, 1978.
 16. 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, n. 6, p. 1562-1584, 1989.
 17. CALDWELL, C. B., RICOTTA, J. J. Changes in visceral blood flow with elevated intra-abdominal pressure. **J. Surg. Res.**, New York, v. 43, p. 14-20, 1992.
 18. CAMPOS, A. C. L. **Translocação bacteriana em ratos recebendo nutrição parenteral**. Curitiba, 1992. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 19. CARRICO, C. J.; MEAKINS, J. L.; MARSHALL, J. C. et al. Multiple-organ-failure syndrome. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 121, p. 196-208, Feb. 1986.
 20. CHUANG, J. H.; CHEN, W, J.; LO, S. K. et al. Adverse metabolic and microbiological effects of tube feeding in experimental canine obstructive jaundice. **JPEN J. Parent. Enteral Nutr.**, Silver Spring, v. 21, n. 1, p. 36-40, Jan-Feb. 1997.
 21. CHUANG, J. H.; SHIEH, C.S.; CHANG, N. K. et al. Role of parenteral nutrition in preventing malnutrition and decreasing bacterial translocation to liver in obstructive jaundice. **World J. Surg.**, New York, v. 17, n. 2 p. 117-134, Aug. 1992.
 22. CLEMENTS, W. D. B.; PARKS, R. W.; ERWIN, P. et al. Role of the gut in the pathophysiology of extrahepatic biliar obstruction. **Gut**, London, v. 39, p. 587-593, 1996.
-

23. CRIST, D. W.; GADACZ, T. R. Complications of laparoscopic surgery. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 73, p. 265-289, 1993.
 24. CUSCHIERI, A.; DUBOIS, F.; MOUIEL, J. et al. The european experience with laparoscopic cholecystectomy. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 161, p. 385-392, 1991.
 25. DEITCH, E. A. Bacterial translocation: is it of clinical significance? **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 98, p. 243-244, Jan. 1990.
 26. DEITCH, E. A. 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.
 27. DEITCH, E. A.; BERG, R. D. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation if the gut flora in burned mice. **J. Trauma**, Baltimore, v. 27, n. 2, p. 161-166, Feb. 1987.
 28. DEITCH, E. A.; BRIDGES W.M.; MA L. et al. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 394-401, 1990.
 29. DEITCH, E. A.; BRIGDES, W. M.; MA, J. W. et al. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 394-401, Apr. 1990.
 30. DEITCH, E. A.; MA, L.; MA, W. J. et al. Inhibition of endotoxin-induced bacterial translocation in mice. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 84, p. 36-42, July 1989.
 31. DEITCH, E. A.; MAEJIMA, K.; BERG, R. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of GI tract microflora in burned rats. **J. Trauma**, Baltimore, v. 25, p. 385-392, 1985.
 32. DEITCH, E. A.; SITTING, K.; LI, M. et al. Obstructed jaundice promotes bacterial translocation from the gut. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 79-84, Jan. 1990.
 33. 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, Dec. 1987.
 34. DEITCH, E. A.; WINTERTON, J.; BERG, R. Thermal injury promotes bacterial translocation from the gastrointestinal tract in mice with impaired T-cell-mediated immunity. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 121, p. 97-101, 1986.
-

35. DEITCH, E. A.; WINTERTON, J.; LI, M. et al. The gut as a portal of entry for bacteremia: role of protein malnutrition. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 205, n. 6, p. 681-692, June 1987.
 36. DEITCH, E. A.; XU, D.; BERG, R.D. Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity. **Surgery**, St Louis, v.109, p. 269-276, 1991.
 37. DIEBEL, L. N., DULCHAVSKY, S. A., BROWN, W. J. Splanchnic ischemia and bacterial translocation in the abdominal compartment syndrome. **J. Trauma**, Baltimore, v. 43, n. 5, p. 852-855, 1997.
 38. DIEBEL, L. N., DULCHAVSKY, S. A., WILSON, R. F. Effect of increased intra-abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow. **J. Trauma**, Baltimore, v. 33, n. 1, p. 45-49, 1992.
 39. DIEBEL, L. N.; SAXE, J.; DULCHAVSKY S. A. Effect of intra-abdominal pressure on abdominal wall blood flow. **Am. Surg.**, Atlanta, v. 58, n. 9, p. 573-576, 1992.
 40. DIEBEL, L. N.; WILSON, R. F.; DULCHAVSKY, S. A. et al. Effect of increased intra-abdominal pressure on hepatic, portal venous, and hepatic microcirculatory blood flow. **J. Trauma**, Baltimore, v. 33, n. 2, p. 279-283, 1997.
 41. EDMISTON C. E.; CONDON R. Bacterial translocation. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 173, p. 73-83, 1991.
 42. ELEFThERIADIS, E.; KOTZAMPASSI, K.; PAPANOTAS, K. et al. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. **World J. Surg.**, New York, v. 20, n. 1, p. 11-16, Jan.-Feb. 1996.
 43. EYPASCH, E.; SPANGENBERGER, W.; URE, B. et al. Laparoskopische und konventionelle übernehmungen perforierter peptischer ulzera-ein gegenüberstellung. **Chirurg.**, Berlin v. 65, p. 445-450, 1994.
 44. FASANO, A.; BUDDILON, G.; GUANDALINI, S. et al. Bile acids reversible effects on small intestinal permeability. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v. 20, n. 1, p 11-16, 1996.
 45. FINK, M. Gastrointestinal mucosa injury in experimental models of shock, trauma, and sepsis. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v.19, p.627-641, 1991.
 46. GARDINER, K. R.; ERWIN, P. J.; ANDERSON, N. H. et al. Colonic bacteria and bacterial translocation in experimental colitis. **Br. J. Surg.**, London, v. 80, p. 512-516, April 1993.
-

47. GARGIULO III, N. J., SIMON, R. J., LEON, W. et al. Hemorrhage exacerbates bacterial translocation at low levels of intra-abdominal pressure. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 133, p. 1351-1355, Dec. 1998.
 48. GOOR H.; ROSMAN C.; GROND J. et al. Translocation of bacteria and endotoxin in organs donors. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 129, p. 1063-1066, 1994.
 49. HAJAR, N. **O uso do Azul de Evans para avaliar a permeabilidade vascular na colite induzida com ácido acético a 10% em ratos Wistar.** Curitiba, 1994. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 50. ISHIZAKI, Y.; BANDAI, Y.; SHIMOMURA, K. et al. Changes in splanchnic blood flow and cardiovascular effects following peritoneal insufflation of carbon dioxide. **Surg. Endosc.**, New York, v. 7, n. 5, p. 420-423, 1993.
 51. ISHIZAKI, Y.; BANDAI, Y.; SHIMOMURA, K. et al. Safe intra-abdominal pressure of carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic surgery. **Surgery**, St. Louis, v. 114, p. 549-554, 1993.
 52. JACOBI, C. A.; ORDEMANN, J.; BÖHM, B. et al. Does laparoscopy increase bacteremia and endotoxemia in a peritonitis model? **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, n. 3, p. 235-238, Mar, 1997.
 53. JIANG, J.; BAHRAMI, S.; LEICHFRIED, G. et al. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 221, n. 1, p. 100-106, Jan. 1995
 54. KELLER, R.; ENGLEBY, F. B. Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various route. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Cambridge, v. 98, n. 3, p. 577-581, 1958.
 55. KIST, C. **Permeabilidade da microcirculação e translocação bacteriana em vigência de ascite induzida pelo sarcoma 180. Estudo experimental.** Curitiba, 1997. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 56. KOTZAMPASSI, K.; KAPANIDIS, N.; KAZAMIAS, P. et al. Hemodynamic events in the peritoneal environment during pneumoperitoneum in dogs. **Surg. Endosc.**, New York, v. 7, p. 494-499, 1993.
 57. KOZIOL, J. M.; RUSH Jr., B. F.; SMITH, S. M. et al. W. Occurrence of bacteremia during and after hemorrhagic shock. **J. Trauma**, Baltimore, v. 28, n. 1, p. 10-15, Jan. 1988
-

58. MACPHERSON, B. R.; PFEIFFER, C. J. Experimental production of diffuse colitis in rats. **Digestion**, Basel, v. 17, p. 135-150, 1978.
 59. MAEJIMA, K.; DEITCH, E. A.; BERG, R. Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of mice. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 119, p. 166-172, Feb. 1984.
 60. MAEJIMA, K.; DEITCH, E. A.; BERG, R. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury. **Infect . Immun.**, Washington, v. 43, n. 1, p. 6-10, Jan. 1984.
 61. MARSHALL J. C.; CHRISTOU N. V.; MEAKINS J. L. The gastrointestinal tract flora. The "undrained abscess" of multiple organ failure. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 218, p. 111-119, 1993.
 62. MARSHALL, J. C.; CHRISTOU, N. V.; HORN, R. et al. The microbiology of multiple organ failure: the proximal gastrointestinal tract as occult reservoir of pathogens. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 123, p. 309-315, Mar. 1988
 63. MARTINS, E. L. **Efeito do tempo de isquemia sobre a translocação bacteriana em ratos com isquemia segmentar de cólon descendente.** Curitiba, 1997. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 64. MCHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica.** 3. Ed., São Paulo, Pedagógica e Universitária, 1980.
 65. MORAES, R. S. **Indução da colite difusa pela instilação de ácido acético via retal.** Curitiba, 1987. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 66. MOURET, P. From the first laparoscopic cholecystectomy to the frontiers of laparoscopic surgery. **Digest. Surg.**, New York, v. 8, p. 124- 125, 1991.
 67. PERISSAT, J.; COLLET, D.; BELLIARD, R. et al. Laparoscopic cholecystectomy: The state of art. A report on 700 consecutive cases. **World J. Surg.**, New York, v. 16, p. 1074-1082, 1992.
 68. RASMUSSEN, I. B.; BERGGREN, U.; ARVIDSSON, D. et al. Effects of pneumoperitoneum on splanchnic hemodynamics: an experimental study in pigs. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 161, n. 11, p. 819-826, Nov. 1995.
 69. REDAN, J. A.; RUSH Jr, B. F.; LYSZ, T. W. et al. Organ distribution of gut-derived bacteria caused by bowel manipulation or ischemia. **Am. J. Surg.**, Newtom, v. 159, p. 85-90, Jan. 1990.
-

70. REPKA, J. C. D.; HARTMANN, A.; EIDT, J. et al. Bacterial Translocation in rats with experimental colitis. **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, em prelo
 71. RUSH JR, B. F. Irreversibility in hemorrhagic shock is caused by sepsis. **Am. Surg.**, Atlanta, v. 55, n. 4, p. 204-208, Apr. 1989.
 72. RUSH JR, 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, n. 5, p. 549-554, May 1988.
 73. SAADIA, R.; SCHEIN, M.; McFARLANE, C. et al Gut barrier function and the surgeon. **Br. J. Surg.**, London, v. 77, n. 5, p. 487-492, May 1990.
 74. SALA-BLANCH, X.; FONTANALS, J.; MARTÍNEZ-PALLI, G. et al. Effects of carbon dioxide vs helium pneumoperitoneum on hepatic blood flow. **Surg. Endosc.**, New York, v. 12, p. 1121-1125, 1998.
 75. SANDOVAL, B. A.; SULAIMAN, T. T.; ROBINSON, A. V. et al. Laparoscopic surgery in a small animal model. **Surg. Endosc.**, New York, v. 10, p. 925-927, 1996.
 76. SCHAUER, P. R.; LUNA, J.; GHIATAS, A. A. et al. Pulmonary function after laparoscopic cholecystectomy. **Surgery**, St. Louis, v. 114, n. 2, p. 389-399, August 1988.
 77. SCHILLING, M. K.; REDAELLI, C.; KRÄHENBÜHL, L. et al. Splanchnic microcirculatory changes during CO₂ laparoscopy. **J. Am. Coll. Surg.**, Chicago, v. 184, p. 378-382, 1997.
 78. SCHLECHTER, B.; MARKS, J.; SHILINGSTAD, R. B. et al. Intra-abdominal mesh prosthesis in a canine model. **Surg. Endosc.**, New York, v. 8, p. 127-129, 1994.
 79. SCHOENBERG, M. H.; BEGER, H. G. Reperfusion injury after intestinal ischemia. **Crit. Care Med.**, v. 21, n. 9, p. 1376-1386, 1993.
 80. SHARON, P.; STENSON, W. F. Metabolism of arachidonic acid in acetic acid colitis in rats. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 88, p. 55-63, 1985.
 81. SHENG, Z. Y.L.; WANG, X. H. Bacterial translocation and multiple system organ failure in bowel ischemia and reperfusion. **J. Trauma**, Baltimore, v. 32, n. 2, p. 148-153, Feb. 1992.
 82. SIEGAL, S. **Estatística não paramétrica**. 5. Ed., São Paulo, Mc Graw – Hill, 1975.
-

83. SMITH, R. S.; FRY, W. R.; TSOI, E. K. M. et al. Gasless laparoscopy and conventional instruments. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 128, p. 1102-1107, Oct. 1993.
 84. SORI, A. J.; RUSH JR, B. F.; LYSZ, T. W. et al. The gut as source of sepsis after hemorrhagic shock. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 155, p. 187-192, Feb. 1988.
 85. SWANK, G. M.; DEITCH, E. A. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. **World J. Surg.**, New York, v. 20, n. 4, p. 411-417, May 1996.
 86. THOMPSON J. S. The intestinal response to critical illness. **Am. J. Gastroenterol.**, Baltimore, v. 90, p. 190-200, 1995
 87. TRAYA, G. **Efeito do tempo de obstrução biliar extra-hepática sobre translocação bacteriana, endotoxemia e fator de necrose tumoral alfa: estudo experimental em ratos.** Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 88. TUG, T.; OZBAS, S.; TEKELI, A. et al. Does pneumoperitoneum cause bacterial translocation? **J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A.**, New York, v. 8, n. 6, p. 401-407, Dec. 1998.
 89. WELLS, C. L. Relationship between intestinal bacteria microecology and the translocation of intestinal bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 58, n. 2, p. 87-93, 1990.
 90. WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A., SIMMONS, R. L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, Chicago, v. 10, n. 5, p. 958-979, 1988.
 91. WELLS, C. L.; ROTSTEIN O. D.; PREVET. T. L. et al. Intestinal bacteria translocation into experimental intra-abdominal abscess. **Arch. Surg.** Chicago, v. 121, p. 102-107, 1986.
 92. 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, n. 5, p. 917-923, Nov. 1988.
 93. WINDBERGER, U. B.; AUER, R.; KEPLINGER, F. et al. The role of intra-abdominal pressure on splanchnic and pulmonary hemodynamic and metabolic changes during carbon dioxide pneumoperitoneum. **Gastrointest. Endosc.**, St. Louis, v. 49, n. 1, p. 84-91, 1999.
-

94. WINDSOR, J. A.; BONHAM, M. J. D.; RUMBALL, M. Splanchnic mucosal ischemia: an unrecognized consequence of routine pneumoperitoneum. **Surg. Laparosc. Endoscop.**, Philadelphia, v. 7 n. 6, p. 480-482, 1997.
 95. YAO, Y.; BAHRAMI, S.; LEICHFRIED, G. et al. Pathogenesis of hemorrhage-induced bacteria/endotoxin translocation in rats: effects of recombinant bactericidal/permeability-increasing protein. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 221, n. 4, p. 398-405, Apr. 1995.
 96. YOSHIDA, T.; KOBAYASHI, E.; MIYATA, M. et al. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 131, p. 219-220, Feb. 1996.
 97. ZAPATA-SIRVENT, R. L.; LARocca, A.; PIÑATE, S. et al. Factores involucrados en la translocación bacteriana en un modelo experimental de obstrucción intestinal. **GEN.**, Caracas, v. 43, n.3, p. 185-193, 1989.
 98. ZAPATA-SIRVENT, R. L.; MONACO, V. M.; PIÑATE, S. et al. Translocación bacteriana en modelo de obstrucción intestinal: II estudio bacteriológico y papel de la inmunidad celular. **GEN.**, Caracas, v. 45, n. 4, p. 273-280, 1991.
 99. ZENI NETO, C. **Translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal: efeito do nível da oclusão e da isquemia.** Curitiba, 1994. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 100. ZENI NETO, C.; CAMPOS, A. C. L.; COELHO, J. C.U. et al. Translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal: efeito da isquemia e do local da oclusão. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 111-116, 1996.
 101. ZIMMERMAN, B J.; GRANGER, D N. Reperfusion injury. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 72, n. 1, p. 65-83, Feb. 1992.
-