

SÉRGIO LUIZ ROCHA

RECUPERAÇÃO EM ÓRGÃOS E TECIDOS DE *Escherichia coli* ATCC 25922, INOCULADA NO ÍLEO TERMINAL DE RATOS COM OBSTRUÇÃO BILIAR PROLONGADA.

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. Clóvis Eurico Röhrig

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos

CURITIBA

1999

Rocha, Sérgio Luiz

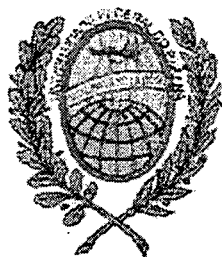
Recuperação em órgãos e tecidos de *Escherichia coli* ATCC 25922, inoculada no íleo terminal de ratos com obstrução biliar prolongada. – Curitiba, 1999.
f. 85.

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Eurico Röhrig

Tese (Doutorado)/Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

1. Icterícia. 2. Translocação bacteriana. 3. Obstrução das vias biliares extra-hepáticas.

I. Título



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

DECLARAÇÃO

Declaro, que o Dr. Sérgio Luiz Rocha completou os requisitos necessários para obtenção do Grau Acadêmico de Doutor em Clínica Cirúrgica ofertado pela Universidade Federal do Paraná.

*Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua tese sob título: "RECUPERAÇÃO EM ÓRGÃO E TECIDOS DE *Escherichia coli* ATCC 25922, INOCULADA NO ÍLEO TERMINAL DE RATOS COM OBSTRUÇÃO BILIAR PROLONGADA", em tempo hábil.*

A tese foi defendida nesta data e aprovada pela Comissão Examinadora composta pelos Professores Drs. Murilo Souza de Menezes - Membro, Jurandir Marcondes Ribas Filho - Membro, João Carlos Simões - Membro, Clementino Zeni Neto - Membro e Nicolau Gregori Czezko - Presidente.

E, por ser verdade, firmo a presente.

Curitiba, 07 de janeiro de 2000

Prof. Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Clínica Cirúrgica da UFPR

Aos meus pais, minha gratidão.

À Solange, Rafaela e Mariana, meu carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Clóvis Eurico Röhrig, Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná pela amizade, pelos ensinamentos na formação médica e pela orientação sábia e criteriosa deste estudo, meu agradecimento.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná e Coordenador do Curso de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio constante e valiosos conselhos, bem como pela coordenação exemplar deste Curso.

Ao Professor Dr. Osvaldo Malafaia, Professor Titular da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento pela brilhante coordenação do curso de Doutorado em Clínica Cirúrgica, quando do início da execução deste Doutorado.

Ao Professor Dr. Sérgio Ossamu Ioshii, Professor Adjunto do Departamento de Patologia Médica da Universidade Federal do Paraná, pela orientação na realização do estudo anatomopatológico, valiosas sugestões e pela amizade.

Ao Professor Dr. Iwan Augusto Collaço, Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento pelas orientações recebidas desde a formação acadêmica e, sobretudo, pela amizade.

Ao Professor Dr. Nicolau Gregory Czezcko, Professor Adjunto do Departamento de Anatomia da Universidade Federal do Paraná, pelo constante apoio, pelo profissionalismo e pela amizade.

Ao Professor Dr. Fernando Hintz Greca, Professor Titular da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, por disponibilizar materiais para a realização desta pesquisa, meu reconhecimento.

Aos Médicos Eduardo José Brommelstroet Ramos e Edson Keiti Otta, pela constante ajuda nas fases experimentais deste trabalho.

Ao Professor Luiz Roberto Baracho Rocha, Professor Adjunto de Informática da Faculdade Positivo, pela realização do trabalho estatístico e incansável dedicação.

À Dra. Líbera Maria Dalla Costa, Chefe do Setor de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelas valiosas orientações e sugestões na realização deste trabalho.

Aos acadêmicos de medicina Patrícia Carla Zanelatto Gonçalves, Patrícia Longhi, Francielle Wormsbecker e Juliana Paula Ferraz dos Santos e, especialmente, Eduardo Antônio Andrade dos Santos, pelo inestimável auxílio em todas as fases deste estudo.

Ao senhor Roberto Ribeiro dos Santos, Técnico do Laboratório do Setor de Bacteriologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo preparo do material para a Microbiologia.

À senhora Lais de Almeida Rodrigues, pela revisão do texto.

À senhora Maria Simone Utida dos Santos Amadeu, Bibliotecária da Sub-Sede de Ciências da Saúde, do Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Paraná, pela orientação e auxílio prestativo na realização das pesquisas bibliográficas.

Ao senhor Álvaro Roberto Gonçalves Machado, Sr. Daniel Fiedler e Sra. Stela Maris Patrício, funcionários da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelo incansável apoio durante a realização dos procedimentos cirúrgicos.

À senhora Edlaine Araújo dos Santos pelo inestimável auxílio e orientação na normatização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
LISTA DE ANEXOS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
3 MÉTODO	12
3.1 GRUPOS DE ESTUDO.....	12
3.2 PREPARO DA SUSPENSÃO DE <i>Escherichia coli</i>	13
3.3 TÉCNICA OPERATÓRIA.....	13
3.3.1 Obstrução biliar extra-hepática.....	13
3.3.2 Inoculação da suspensão de <i>Escherichia coli</i> ou solução salina isotônica.....	14
3.3.3 Sacrifício.....	15
3.4 MICROBIOLOGIA.....	17
3.5 HISTOLOGIA.....	18
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4 RESULTADOS	19
4.1 ACHADOS MACROSCÓPICOS.....	19
4.2 HISTOLOGIA GERAL.....	19
4.2.1 Histologia do fígado.....	19
4.2.2 Histologia do baço.....	20
4.2.3 Histologia do pulmão.....	22
4.2.4 Histologia do rim.....	22
4.2.5 Histologia do íleo terminal.....	23
4.3 PESO DOS RATOS E DOS ÓRGÃOS.....	26
4.4 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO log (UFC) / grama DOS ÓRGÃOS E TECIDOS.....	27

4.4.1 Fígado.....	27
4.4.2 Pulmão.....	27
4.4.3 Baço.....	27
4.4.4 Linfonodo mesentérico.....	28
4.5 COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO log (UFC) / grama ENTRE OS ÓRGÃOS E TECIDOS	28
4.5.1 Fígado.....	28
4.5.2 Pulmão.....	29
4.5.3 Baço.....	29
4.5.4 Linfonodo mesentérico.....	30
4.6 PERCENTUAL DE OCORRÊNCIA DE RECUPERAÇÃO BACTERIANA DOS ÓRGÃOS E TECIDOS NOS GRUPOS I E II.....	31
4.7 COMPARAÇÃO PERCENTUAL NA OCORRÊNCIA DE RECUPERAÇÃO BACTERIANA DOS ÓRGÃOS E TECIDOS ENTRE OS GRUPOS I E II.....	32
4.8 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO LOG (UFC) / ÓRGÃO OU TECIDO.....	34
4.9 HEMOCULTURA.....	37
4.10 FENÓTIPO.....	37
5 COMENTÁRIOS.....	38
5.1 MODELO EXPERIMENTAL.....	38
5.2 MICROBIOLOGIA.....	38
5.3 ALTERAÇÕES TECIDUAIS.....	40
5.4 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE UFC / GRAMA DE TECIDO.....	40
5.5 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE UFC / ÓRGÃO.....	44
5.6 HEMOCULTURAS.....	44
6 CONCLUSÕES.....	46
ANEXOS.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTA DE TABELAS

01. Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 15 minutos.....	24
02. Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 30 minutos.....	24
03. Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 90 minutos.....	24
04. Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo médio dos ratos sacrificados em 15 minutos.....	26
05. Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo médio dos ratos sacrificados em 30 minutos.....	26
06. Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo média dos ratos sacrificados em 30 minutos.....	26
07. Percentual de ocorrência de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos no grupo I	31
08. Percentual de ocorrência de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos no grupo II	32
09. Percentual de hemoculturas positivas para Escherichia coli da veia cava inferior.....	37
10. Percentual de hemoculturas positivas para Escherichia coli da veia porta.....	37

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

01. Ducto biliar dissecado para ligadura.....	14
02. Ligadura do íleo terminal.....	15
03. Traquéia e brônquios dissecados após a retirada do coração	16
04. Achados macroscópicos após 21 dias de colestase extra-hepática	20
05. Histologia do fígado no controle.....	21
06. Histologia do fígado após 21 dias de obstrução biliar.....	21
07. Histologia do pulmão após 21 dias de obstrução biliar.....	22
08. Histologia do rim após 21 dias de obstrução biliar.....	23
09. Histologia do íleo terminal após 21 dias de obstrução biliar - alteração grau 2.....	25
10. Histologia do íleo terminal após 21 dias de obstrução biliar - alteração grau 3.....	25
11. Comparação da concentração média do log (UFC) / grama de fígado entre os grupos I e II.....	28
12. Comparação da concentração média do log (UFC) / grama de pulmão entre os grupos I e II.....	29
13. Comparação da concentração média do log (UFC) / grama de baço entre os grupos I e II.....	30
14. Comparação da concentração média do log (UFC) / grama de linfonodo mesentérico entre os grupos I e II.....	31
15. Comparação do percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no fígado entre os grupos I e II.....	32
16. Comparação do percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no pulmão entre os grupos I e II.....	33
17. Comparação do percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no baço entre os grupos I e II.....	33
18. Comparação do percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no linfonodo mesentérico entre os grupos I e II.....	34
19. Comparação da média do log (UFC) / fígado entre os grupos I e II.....	35
20. Comparação da média do log (UFC) / pulmão entre os grupos I e II.....	35
21. Comparação da média do log (UFC) / baço entre os grupos I e II.....	36
22. Comparação da média do log (UFC) / linfonodo mesentérico entre os grupos I e II..	36

LISTA DE ANEXOS

A01. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 15 minutos.....	47
A02. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 30 minutos.....	47
A03. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 90 minutos.....	47
A04. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 15 minutos.....	47
A05. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 30 minutos.....	47
A06. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 90 minutos.....	48
A07. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos...	48
A08. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos...	48
A09. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos...	48
A10. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	48
A11. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	49
A12. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	49
A13. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	49
A14. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	49
A15. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	49
A16. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	49
A17. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	50
A18. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	50
A19. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	50
A20. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	50
A21. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	50
A22. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	50
A23. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	51
A24. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	51
A25. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	51
A26. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	51
A27. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	51
A28. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos.....	52

A29. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos.....	52
A30. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos.....	52
A31. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo I.....	52
A32. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo II.....	52
A33. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo III.....	52
A34. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 15 minutos.....	53
A35. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 30 minutos.....	53
A36. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 90 minutos.....	53
A37. Número de UFC / placa do fígado no Grupo II com sacrifício em 15 minutos.....	53
A38. Número de UFC / placa do fígado no Grupo II com sacrifício em 30 minutos.....	54
A39. Número de UFC / placa do fígado no Grupo II com sacrifício em 90 minutos.....	54
A40. Número de UFC / placa do fígado no Grupo III com sacrifício em 15 minutos.....	54
A41. Número de UFC / placa do fígado no Grupo III com sacrifício em 30 minutos.....	54
A42. Número de UFC / placa do fígado no Grupo III com sacrifício em 90 minutos.....	55
A43. Número de UFC / placa do baço no Grupo I com sacrifício em 15 minutos.....	55
A44. Número de UFC / placa do baço no Grupo I com sacrifício em 30 minutos.....	55
A45. Número de UFC / placa do baço no Grupo I com sacrifício em 90 minutos.....	55
A46. Número de UFC / placa do baço no Grupo II com sacrifício em 15 minutos.....	56
A47. Número de UFC / placa do baço no Grupo II com sacrifício em 30 minutos.....	56
A48. Número de UFC / placa do baço no Grupo II com sacrifício em 90 minutos.....	56
A49. Número de UFC / placa do baço no Grupo III com sacrifício em 15 minutos.....	56
A50. Número de UFC / placa do baço no Grupo III com sacrifício em 30 minutos.....	57
A51. Número de UFC / placa do baço no Grupo III com sacrifício em 90 minutos.....	57
A52. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo I com sacrifício em 15 minutos.....	57
A53. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo I com sacrifício em 30 minutos.....	57
A54. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo I com sacrifício em 90 minutos.....	58
A55. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo II com sacrifício em 15 minutos.....	58
A56. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo II com sacrifício em 30 minutos.....	58
A57. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo II com sacrifício em 90 minutos.....	58

A58. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo III com sacrificio em 15 minutos.....	59
A59. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo III com sacrificio em 30 minutos.....	59
A60. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo III com sacrificio em 90 minutos.....	59
A61. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo I com sacrificio em 15 minutos.....	59
A62. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo I com sacrificio em 30 minutos.....	60
A63. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo I com sacrificio em 90 minutos.....	60
A64. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo II com sacrificio em 15 minutos.....	60
A65. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo II com sacrificio em 30 minutos.....	60
A66. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo II com sacrificio em 90 minutos.....	61
A67. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrificio em 15 minutos.....	61
A68. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrificio em 30 minutos.....	61
A69. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrificio em 90 minutos.....	61
A70. Composição do ágar MacConkey: meio de cultura seletivo para bacilos Gram-negativos facultativos.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC – American Type Culture Collection.
C – carbono
CFU – colony-forming units
cm - centímetro
DB – ducto biliar
G – gauge
g – grama
i – incontáveis
log – logaritmo decimal.
ml – mililitro
n - número
° C – grau Celcius.
p – probabilidade
PEG – polietilenoglicol
rpm – rotações por minuto.
SRE – sistema reticuloendotelial
UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar a atividade do sistema retículoendotelial em ratos com obstrução biliar de 21 dias, através da recuperação em órgãos e tecidos de bactérias viáveis, previamente injetadas na luz do íleo terminal. Foram utilizados 45 ratos Wistar, machos, com peso médio de 287g, colocados em 3 grupos. Os ratos foram anestesiados por via inalatória com éter etílico em todos os procedimentos cirúrgicos. O grupo I constituiu-se de 14 ratos hígidos, que através de laparotomia mediana infra-umbilical, receberam injeção de 2 ml de suspensão de *Escherichia coli* 10^9 UFC/ml na luz do íleo terminal. No grupo II, formado por 20 ratos, realizou-se operação para ligadura e secção do ducto biliar (DB) e após 21 dias, utilizou-se laparotomia semelhante ao grupo anterior e injetou-se na luz do íleo terminal a suspensão de *Escherichia coli* na mesma concentração e volume. No grupo III, composto de 11 ratos com obstrução do ducto biliar por 21 dias, através de laparotomia infra-umbilical, injetou-se 2 ml de solução salina isotônica na luz do íleo terminal. Os ratos foram sacrificados 15, 30 e 90 minutos após a injeção do inóculo no íleo terminal, sendo todos os procedimentos realizados de forma asséptica e sob anestesia. Retirou-se o linfonodo mesentérico, 1 ml de sangue da veia porta e o maior volume possível de sangue da veia cava inferior. Na seqüência procedeu-se a retirada de parte da parede ventral do tórax e injetou-se 10 ml de solução salina isotônica no interior do ventrículo esquerdo. A seguir foram retirados o fígado, o baço e o pulmão direito, e destes um fragmento padronizado, enviados para microbiologia, juntamente com o linfonodo mesentérico e o sangue. Prosseguiu-se com a remoção do rim esquerdo e um segmento do íleo terminal. Os pesos dos ratos e dos fragmentos dos órgãos e tecidos foram anotados para avaliação posterior. Exceto o linfonodo mesentérico, amostras de todos os órgãos foram enviadas para histologia. Os fragmentos dos órgãos e tecidos, após homogeneizados, foram suspensos em quantidade suficiente para 3 ml de solução salina isotônica e semeados com diluições de 1:3 até 10^{-3} em placas de ágar MacConkey. Após a incubação destas por 48 horas a 37°C , procedeu-se à contagem das unidades formadoras de colônias (UFC)/placa. Na avaliação histológica o edema subepitelial no íleo terminal estava presente nos ratos com obstrução biliar e as alterações teciduais do fígado compatíveis com o tempo de colestase. No grupo III, não houve desenvolvimento de colônias de bactérias nas placas de cultivo nos tempos avaliados. A concentração de bactérias recuperadas no pulmão, expressas pela média do log UFC/g, foi significativamente maior em 15 minutos nos ratos com obstrução biliar. Na comparação aos 30 minutos entre os grupos I e II ocorreu diminuição significativa das concentrações de UFC/g no pulmão nos dois grupos. As concentrações de UFC/grama no fígado estavam consistentemente maiores no grupo com colestase em relação ao controle aos 15 minutos e significativamente maiores aos 30 minutos. A concentração de UFC/órgão foi significativamente maior no fígado dos ratos com icterícia em todos os tempos avaliados. O peso dos órgãos como o percentual do peso dos ratos foi maior no fígado, baço e pulmão dos ratos com icterícia. Concluiu-se que o sistema retículoendotelial está prejudicado após 21 dias de obstrução biliar, com dificuldade para a remoção das bactérias no fígado em 30 minutos. Ocorreu eficaz eliminação das bactérias pelo pulmão em 30 minutos, independente da presença de obstrução biliar.

ABSTRACT

The purpose of this experimental study was to investigate the reticuloendothelial function in obstructive jaundice, through the recovery of *Escherichia coli* in visceral organs and mesenteric lymph node, previously injected in the terminal ileum lumen. Fifty Wistar male rats, with average weight of 287g, were divided in 3 groups: group I (n=14), group II (n=20), group III (n=11). The rats of group I had no previous operation. In the last two groups, obstructive jaundice was performed by ligation and division of the bile duct. In group I, 2 ml of 10⁹ *Escherichia coli* were injected in the terminal ileum lumen. In group II, at 21 days following the bile duct ligation, the same procedure was accomplished. In group III, also after 21 days of cholestasis, 2 ml of physiological saline were injected by the same route. At 15, 30 and 90 minutes, the rats were sacrificed and the bacterial distribution in the mesenteric lymph node, liver, spleen and lung was determined, by qualitative and quantitative culture. Blood samples were collected from both the portal vein and the inferior vena cava. Histologic analysis of these organs was performed and showed an abnormal mucosal appearance of the small intestine, exhibiting subepithelial edema, in rats with biliary obstruction. Changes in liver tissue occurred, but they did according to the period of cholestasis. Bacteria did not translocate in group III. An increased mean CFU/g was recovered after 15 minutes from the lung of rats with biliary obstruction. After 30 minutes, the incidence of bacterial translocation to the lungs decreased significantly in the rats of groups I and II. At 30 minutes following the injection of *Escherichia coli*, the rats subjected to ligation of the bile duct exhibited a higher level of bacterial count in the liver, compared to the controls. The distribution of bacteria was higher in the liver of jaundiced rats at 15, 30 and 90 minutes, taking into consideration the total organ weight. In these rats, liver, spleen and lung weight were higher. It is concluded that the reticuloendothelial function is impaired in rats with obstructive jaundice, and so is the removal capacity of bacteria from the liver. At 30 minutes, efficient bacterial clearance was performed by the lung, both in jaundiced and not-jaundiced rats.

1 INTRODUÇÃO

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica é complicação freqüente da colestase prolongada, principalmente quando a causa é a presença de obstáculo dos ductos maiores e extra-hepáticos. A deterioração dos doentes que a manifestam, atinge percentual relevante desta população^{7, 16, 60, 67, 84, 88}. Postula-se que, das causas, a bacteremia e a endotoxemia são as mais notáveis. Para a necessária fundamentação, inclinam-se os pesquisadores ao estudo dos efeitos da translocação de bactérias e endotoxinas, tanto em casos clínicos^{17, 18, 53, 74, 79, 100} quanto em animais de experimentação^{10, 20, 27, 38, 46, 47, 63, 83, 86, 89, 90, 97, 99, 102, 108}.

Utiliza-se o termo translocação bacteriana, para descrever o fenômeno no qual bactérias atravessam a barreira mucosa do intestino e sobrevivem em órgãos ou tecidos normalmente estéreis^{14, 38, 51}. A esse conceito, ALVERDY⁵ propôs um aprimoramento para incluir todas as translocações microbianas definidas como a passagem de microrganismos viáveis e não viáveis e produtos microbianos tais como endotoxinas, através da barreira intestinal anatomicamente intacta. As endotoxinas são lipopolissacarídeos estáveis da parede externa de bactérias gram-negativas que, presentes na circulação sistêmica, têm a capacidade de iniciar resposta funcional de longo alcance, através da liberação de citocinas das células do sistema fagocitário monomorfonuclear^{1, 12, 61}.

Em animais de laboratório, a translocação bacteriana pode ser promovida por várias condições anormais, entre as quais aquelas decorrentes da administração de antibióticos *per os*^{37, 116}, uso de nutrição parenteral total^{6, 21, 25}, desnutrição^{32, 33}, choque hemorrágico⁹, queimaduras^{4, 71, 72}, obstrução intestinal^{34, 120} e icterícia obstrutiva^{34, 102, 108}.

Do ponto de vista fisiopatológico, a translocação bacteriana pode ser promovida pela presença de um destes três fatores: desequilíbrio da microflora autóctone intestinal, debilidade das defesas imunitárias do hospedeiro e ruptura física da barreira mucosa do intestino³⁸.

Sob circunstâncias normais, as bactérias endógenas têm a habilidade de manter estável a microflora do intestino e contribuir para o mecanismo de defesa do organismo ao prevenir translocação bacteriana, ao mesmo tempo em que dificultam a colonização por bactérias exógenas, ao que se denomina resistência à colonização¹⁰⁹.

Com o interesse crescente no assunto, nota-se também maior aceitação da teoria da translocação de bactérias e de endotoxinas como causa primeira ou como adjuvante nos

quadros sépticos¹¹¹ e, na sua progressão, para a disfunção e até a falência de órgãos e sistemas^{31, 50}. Explica-se, dessa forma, como podem morrer 30% dos doentes com sepse em que não se consegue demonstrar quaisquer focos de origem⁵⁶.

A ausência de bile dentro do trato gastrointestinal, experimentalmente, causa a perda do efeito emulsificante antiendotoxina dos ácidos biliares e suscita grande quantidade de endotoxinas no intestino para absorção na circulação portal⁶⁶, além de permitir crescimento excessivo de bacilos entéricos gram-negativos, implicando em aumento de translocação bacteriana³⁸.

É amplamente aceito que, na icterícia obstrutiva, a endotoxemia sistêmica resulta de falha na eliminação hepática de endotoxinas liberadas pelo intestino na circulação portal. Muitos, mas não todos os autores, acreditam que a ausência de bile dentro da luz intestinal é o primeiro fator responsável pelo aumento dos níveis de endotoxinas no sangue do sistema porta destes pacientes^{38, 48, 85, 102, 116}.

A diminuição da função fagocitária do sistema reticuloendotelial (SRE) foi observada em doentes com icterícia obstrutiva^{49, 80}. Na avaliação experimental, a depressão na atividade do SRE se correlaciona com níveis elevados de bilirrubinas plasmáticas⁸⁰, aumento nas concentrações de endotoxinas²⁶ e duração de icterícia acima de 21 dias^{45, 60}. A diminuição da eficácia do SRE na icterícia obstrutiva se comprova após inoculação venosa ou peritoneal de bactérias, marcadas ou não com substâncias radioativas, em animais com obstrução biliar nos quais há retardo na eliminação das bactérias, o que resulta no aumento da retenção destas em órgãos como fígado, baço, rins e pulmões^{47, 63, 77, 89, 98, 99}. O decréscimo na atividade fagocitária pode ser avaliado também pela diminuição da taxa de eliminação de partículas injetadas, tais como carbono coloidal, microagregados de albumina, látex marcado com isotiocianato de fluoresceína, entre outros²⁶. Tem-se assim, a aceitação da existência da disfunção do SRE na colestase, que se baseia, porém, em poucos estudos^{65, 96}. Os modelos em que se injetam bactérias *in bolus* numa veia sistêmica ou no peritônio, utilizam meios de cultivo e espécies de bactérias diferentes, de comportamento diverso, cujos valores e interpretações apresentam diferenças significantes. A mensuração dessa disfunção, por exemplo, mesmo com modelos e bactérias semelhantes, pode conduzir a impressões diferentes, dependentes, unicamente, do período escolhido para a observação. É possível se presumir que na inoculação venosa de bactérias, o pulmão tem a oportunidade do contato com

uma concentração maior de bactérias antes dos outros órgãos. Esta ocorrência pode contribuir para a crescente captação de bactérias pelo pulmão em relação ao fígado, na colestase.

1.1 OBJETIVOS

Propõe-se, neste estudo, o modelo murino que simula a bacteremia inicial do sistema porta, no qual a luz intestinal é a rota de introdução das bactérias “candidatas” à translocação bacteriana, na vigência de icterícia obstrutiva prolongada. Testa-se assim, a eficácia do processo de fagocitose pela concentração de bactérias viáveis nos diversos órgãos e tecidos, comparada ao grupo controle. Avaliam-se também as alterações teciduais à microscopia óptica, decorrentes da obstrução biliar prolongada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A relevância das complicações inerentes à sepse em pacientes com icterícia obstrutiva levou pesquisadores a tentarem elucidar como e sob quais circunstâncias a colestase afeta o sistema imunitário e predispõe a translocação de bactérias. A avaliação experimental da translocação é determinada pelo cultivo de bactérias viáveis, provenientes do intestino em órgãos e tecidos normalmente estéreis, enquanto a atividade do sistema reticuloendotelial (SRE) pode ser realizada através da determinação do índice de eliminação de bactérias da corrente sanguínea ou da recuperação de bactérias viáveis em órgãos e tecidos, após indução de bacteremia.

Na revisão da literatura a seguir, mostram-se alguns estudos experimentais que avaliam a função do SRE em ratos com icterícia e outros que se referem à translocação bacteriana com obstrução biliar na vigência ou não de icterícia, por estarem relacionados à análise deste trabalho. Cabe esclarecer que a citação de ligadura do ducto biliar (DB) será usada para descrever o procedimento de ligadura seguida da secção do mesmo.

DEITCH e colaboradores³⁸ utilizaram três grupos de camundongos, onde foi investigada se a ligadura do ducto biliar (DB) promoveria a translocação de bactérias. Os camundongos foram divididos em grupo controle, grupo de simulação de ligadura do DB e grupo com ligadura alta do DB. Após sete dias, a cultura de tecidos só demonstrou bactérias no linfonodo mesentérico dos camundongos com colestase. As bactérias mais encontradas foram a *Escherichia coli*, *Proteus sp* e *Staphylococcus sp*. A população bacteriana no ceco estava 100 vezes aumentada no grupo com ligadura do DB, porém, sem diferença significativa entre os grupos. O edema subepitelial nas vilosidades do íleo terminal foi conspícuo somente na colestase. Os autores não estabeleceram relação entre o grau de translocação e as alterações anatômicas do íleo. Atribuem os resultados ao fato de que a ausência de bile, dentro do trato gastrointestinal, permite aumento no crescimento do número de bacilos entéricos e a combinação do aumento da concentração de bactérias e lesão da mucosa intestinal promove translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico.

Para investigar o efeito da icterícia obstrutiva na translocação bacteriana e na microflora endógena do jejuno, íleo e ceco, PARKS e colaboradores⁸² observaram ratos com modelo semelhante ao anterior e que havia *Escherichia coli* no linfonodo mesentérico de 62,5% dos ratos com o DB ocluído. Encontraram bactérias no sangue e no fígado em apenas

12,5%. O aumento da população bacteriana do ceco também foi semelhante ao modelo anterior. Atribuíram, eles e o grupo de DEITCH³⁸, a translocação ao aumento da população de bactérias no ceco. Nem um e nem outro testou o papel do aumento intencional dessa população. RÖHRIG e colaboradores⁹⁰ induziram o aumento da população ileal de *Escherichia coli* em ratos, através da injeção *in loco* de quantidades crescentes de bactérias e observaram aumento progressivo na percentagem de linfonodos mesentéricos com translocação bacteriana, com notável incidência nos controles e em todos os ratos com icterícia obstrutiva.

A translocação bacteriana foi avaliada por TRAYA¹⁰⁸, em ratos após obstrução biliar pelo período de 1 a 14 dias, comparada a controles e ligadura simulada do DB. No sacrifício dosou endotoxinas, fator de necrose tumoral alfa e bilirrubinas. Encontrou aumento progressivo nas taxas de translocação bacteriana nos grupos e nos órgãos afetados dos ratos com icterícia, mais pronunciado após 14 dias de obstrução biliar. Ocorreu aumento concomitante do níveis de endotoxemia e fator de necrose tumoral nesses animais.

CAKMAKCI e colaboradores²⁰ propuseram estudo para verificar se a ausência de bile dentro do intestino ou a presença de icterícia obstrutiva *per si* promoveria translocação bacteriana. Utilizaram ratos albinos livres de bactérias específicas, com ausência de bile na luz intestinal por ligadura do DB ou derivação biliar externa. Na microbiologia realizada após 10 dias, os ratos com ligadura do DB tiveram maior incidência de translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico, fígado e baço que o grupo controle, porém, esta diferença não foi significativa. No grupo com derivação biliar externa houve significativo aumento nas taxas de translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico, fígado e baço, em relação ao grupo controle. Não houve diferença significativa na taxa de translocação bacteriana para os órgãos, quando comparados os grupos com ligadura do DB e derivação biliar externa. Como nos estudos anteriores, a quantidade de bactérias isoladas no ceco não apresentou diferença significativa entre os três grupos. Os resultados suportam a hipótese de que o fator chave para a translocação de bactérias é a ausência de bile no trato gastrointestinal. Não é conhecido qual ou quais dos componentes da bile podem causar ou prevenir lesão da mucosa na icterícia obstrutiva, nem como isso ocorre. Os autores sugerem a influência das endotoxinas, pois estas causam lesão da mucosa em ratos com obstrução biliar ou a perda da função protetora da imunoglobulina A secretória (IgA) que, em ratos, é encontrada praticamente apenas na bile.

SLOCUM e colaboradores¹⁰² tiveram o mesmo objetivo do estudo anterior. Para tanto, compararam ratos com ausência da bile no interior do tubo digestivo ou por obstrução do DB ou por desvio da bile para a bexiga urinária. Ao sétimo dia, a translocação de bactérias foi significativamente maior nos ratos submetidos à ligadura do DB ou derivação coledocovesical, em relação aos controles ou simulação. Na histologia, ocorreu edema subepitelial no íleo dos animais submetidos à ligadura do DB e derivação biliar. Os dados encontrados sugerem que não a obstrução biliar, mas a ausência de bile no interior da luz intestinal é que promove lesão da mucosa intestinal e translocação bacteriana.

Com o mesmo objetivo dos estudos anteriores, CLEMENTS e colaboradores²⁷ utilizaram grupos de ratos com obstrução biliar durante 1 e 3 semanas e um grupo com derivação coledocovesical por 1 semana. A translocação bacteriana foi significativa nos grupos com 1 e 3 semanas de ligadura do DB, comparados com aqueles com 1 e 3 semanas de ligadura simulada, não operados e com derivação coledocovesical. No grupo com ligadura do DB por 1 semana a translocação se concentrou principalmente no linfonodo mesentérico, com predomínio de *Escherichia coli*, enquanto que, no grupo com 3 semanas de icterícia obstrutiva o resultado de translocação para o linfonodo mesentérico foi similar, porém, foi mais comum no fígado, baço e pulmão e com diversificação dos microrganismos encontrados. O grupo com três semanas de evolução de ligadura do DB foi o único com significativo aumento nas concentrações de endotoxina. A contagem de bactérias aeróbicas gram-negativas no ceco estava significativamente aumentada nos animais com 1 semana de ligadura do DB e naqueles com derivação coledocovesical. Alterações não específicas do íleo terminal foram identificadas nos animais com 3 semanas de ligadura do DB com achatamento das vilosidades, alargamento das placas de Payer e aumento do número de figuras mitóticas. Os autores postulam que a ausência de sais biliares dentro do trato gastrointestinal resulta em crescimento da microflora endógena e translocação bacteriana nos estágios precoces da obstrução biliar. Com a progressão do tempo de obstrução biliar, há queda maior do efeito de contenção dos linfonodos mesentéricos sobre as bactérias do intestino, promovendo disseminação sistêmica. Esse mecanismo pode estar relacionado com a deficiência da função fagocitária monomorfonuclear. A passagem da endotoxina portal para a circulação sistêmica acarreta alteração da integridade mucosa gastrointestinal, resultando no aumento da translocação bacteriana e perpetuando a resposta inflamatória sistêmica.

PARKS e colaboradores⁸³, em estudo clínico e experimental, avaliaram a função da barreira do intestino na icterícia obstrutiva e, nos pacientes, também o efeito da derivação biliar interna. No estudo experimental, os ratos foram submetidos à ligadura do DB ou ligadura simulada do DB. A permeabilidade do intestino foi calculada pela mudança da percentagem da recuperação na urina de 24 horas, após administração oral de polietilenoglicol 4000 ([¹⁴C] PEG 4000), 1 semana antes e outra após a cirurgia. Realizou-se estudo microbiológico após 7 dias de icterícia obstrutiva. O estudo clínico prospectivo foi realizado em pacientes com obstrução biliar (bilirrubinemia acima de 100µmol/ml), submetidos à derivação biliar interna como terapêutica definitiva, por meio de cirurgia. A permeabilidade intestinal, no estudo clínico, foi avaliada pela medida da excreção urinária após administração oral de lactulose e manitol. A translocação bacteriana foi demonstrada em 7 de 12 animais com icterícia e não ocorreu no grupo simulação. A *Escherichia coli* foi isolada em todos os casos onde ocorreu translocação para o linfonodo mesentérico. Houve aumento significativo na permeabilidade intestinal nos ratos icterícos comparados aos controles, mas não ocorreu diferença significativa na porcentagem de alteração da permeabilidade intestinal entre os ratos que apresentaram translocação bacteriana e aqueles sem translocação. A proporção lactulose:manitol nos pacientes, antes da derivação biliar interna, estava significativamente maior que nos controles (11 voluntários normais). A proporção lactulose:manitol retornou ao normal 28 dias após a operação e estava significativamente menor em relação à 1 dia antes da operação. Quando comparados os pacientes que sofreram cirurgia para o alívio da icterícia obstrutiva e aqueles submetidos à laparotomia sem icterícia, houve diferença significativa no índice de permeabilidade intestinal imediatamente após a operação. Ocorreu evidente disfunção da barreira do intestino na icterícia obstrutiva experimental, com translocação bacteriana significativa para o linfonodo mesentérico e aumento da permeabilidade intestinal. Houve também aumento significativo na permeabilidade intestinal em pacientes icterícos, retornando ao normal 28 dias após derivação biliodigestiva. Esses achados sugerem que o retorno precoce da bile para dentro do trato gastrointestinal, pode melhorar a função da barreira intestinal e reduzir a incidência de sepse derivada do trato digestivo ou outras complicações associadas à endotoxemia na icterícia obstrutiva.

Para avaliação da atividade reticuloendotelial, KATZ e colaboradores⁶³ utilizaram ratos conduzidos previamente a três situações diferentes: icterícia obstrutiva por ligadura do DB, ligadura simulada do DB ou esplenectomia. Decorridos 21 dias, inocularam suspensão de

Escherichia coli marcada com enxofre radioativo na circulação venosa sistêmica de todos os animais e coletaram sangue e órgãos após dez minutos. A eliminação intravascular de bactérias foi igual nos três grupos. No grupo com 21 dias de icterícia obstrutiva houve diminuição significativa na retenção de bactérias pelo fígado e aumento significativo na retenção de bactérias nos pulmões, em relação aos outros dois grupos. Em conclusão, a obstrução biliar em ratos diminuiu a fagocitose hepática e aumentou a localização de bactérias viáveis nos pulmões. Sugerem que esta disfunção do sistema reticuloendotelial levaria ao aumento da susceptibilidade para infecções na vigência de icterícia obstrutiva.

Na avaliação do índice de fagocitose de ratos com obstrução biliar de 7, 14 e 21 dias, RÖHRIG⁸⁹ utilizou a via venosa periférica para injetar suspensão de *Escherichia coli* mortas marcadas com iodo radioativo e determinou sua captação entre 30 segundos e 15 minutos. Observou deficiência funcional progressiva do SRE na colestase. O órgão que mais captou nos controles foi o fígado, com diminuição em três semanas de colestase. Não ocorreu variação de captação no baço. O linfonodo mesentérico captou significativamente mais no grupo com obstrução biliar. Ocorreu aumento no número de fagócitos no fígado e pulmão. O edema subepitelial e a hiperplasia e hipertrofia das células de Kupffer foram evidentes no grupo com obstrução biliar. Conclui o autor, que a obstrução biliar progressivamente diminui a ação do sistema monomorfonuclear, com notável alteração tecidual hepática e intestinal.

Nesta mesma linha de pesquisa, SCOTT-CONNER e colaboradores⁹⁹ avaliaram a falha de eliminação bacteriana e o índice de fagocitose, através de vias diferentes de inoculação de suspensão de *Escherichia coli* em ratos. Utilizando a cavidade peritoneal ou a via venosa para inocular as bactérias, avaliou-se o comportamento do SRE após uma e duas semanas de obstrução biliar e o mesmo período para ligadura simulada do DB. O sangue foi coletado em período que variou de 15 a 240 minutos nos ratos que receberam injeção intraperitoneal e 1 a 240 minutos naqueles com injeção intravenosa. Aqueles que receberam injeção intraperitoneal, com uma semana após ligadura do DB ou ligadura simulada, mostraram retardo na eliminação de bactérias, porém, na segunda semana, apenas o grupo com icterícia permanecia com retardo na eliminação das bactérias. Quando avaliaram o índice fagocitário, também ocorreu retardo significativo na eliminação das bactérias nos ratos com 2 semanas de obstrução do DB, em relação ao grupo com ligadura simulada. Um número significativamente maior de bactérias foi recuperado dos pulmões nos ratos com ligadura do DB. Não houve diferença significativa nas culturas quantitativas do fígado e baço. O

experimento evidenciou retardo na eliminação de bactérias pelo sistema reticuloendotelial após uma semana de operação, tanto em ratos com icterícia obstrutiva, quanto naqueles que sofreram trauma cirúrgico, mas estes recuperaram sua função reticuloendotelial após duas semanas, independente da via de indução da bacteremia, enquanto aqueles, com icterícia, persistiram com deficiência para eliminar bactérias. Os autores acreditam que esses achados poderiam estar vinculados às complicações sépticas e pulmonares notadas na obstrução biliar precoce, levando à incapacidade do hospedeiro em suportar bacteremia. A persistência de organismos viáveis nos pulmões após indução de bacteremia, poderia ser um dos mecanismos para explicar a disfunção pulmonar na sepse.

Para avaliar a velocidade de eliminação de bactérias injetadas na circulação sistêmica, BALL e colaboradores¹⁰ realizaram estudo experimental comparando ratos com 10 dias de obstrução do DB ou simulação de ligadura do DB, após inoculação intravenosa de suspensão de *Staphylococcus aureus*. Os resultados demonstraram rápida eliminação de bactérias da corrente sanguínea nos ratos com trauma cirúrgico e persistência nos animais com icterícia. Nos ratos sem ligadura do DB, a concentração hepática de bactérias foi consistentemente maior que a concentração pulmonar, ocorrendo o inverso nos animais icterícios, exceto após trinta minutos. À microscopia eletrônica, o exame do fígado demonstrou bactérias dentro das células de Kupffer no período entre 15 e 180 minutos e sem diferença morfológica entre os dois grupos. Os autores correlacionam a falha de eliminação de bactérias à disfunção do sistema reticuloendotelial presente na icterícia obstrutiva. A rápida captação das bactérias pelos fagócitos implicaria em que a alteração do SRE estaria na incapacidade de destruição das bactérias fagocitadas ou por retardo na chegada das bactérias ao sistema reticuloendotelial.

MEGISON e colaboradores⁷⁷ avaliaram em ratos, a atividade fagocitária do sistema monomorfonuclear na icterícia obstrutiva com 21 dias de duração e com intervalos de 1 a 4 semanas, após derivação biliodigestiva. Utilizou-se inoculação intravenosa de *Escherichia coli* marcadas com selênio radioativo e sacrifício dos ratos após 30 minutos. No grupo de obstrução biliar ocorreu aumento significativo na captação pulmonar e decréscimo significativo na captação hepática, em relação aos controles. Após coledocoduodenostomia, a captação hepática e pulmonar retornou aos níveis normais em 1 semana de derivação biliar interna e assim permaneceu por 4 semanas. Não houve diferença na captação esplênica entre

os grupos. O estudo mostra rápida recuperação da função fagocitária, após derivação interna na obstrução biliar em ratos.

SCOTT-CONNER e colaboradores⁹⁸ voltaram a apresentar estudo, enfocando a diminuição da atividade do sistema reticuloendotelial em ratos com obstrução biliar precoce. Após 10 dias de obstrução do DB inocularam, na cavidade peritoneal, uma suspensão de *Streptococcus pneumoniae*. Notaram, após 4 horas, que 100% dos animais ictericos apresentavam bacteremia contra apenas 50% dos controles e a recuperação quantitativa de bactérias foi significativamente maior nos pulmões, fígado, baço e rins dos ratos ictericos comparados aos controles. Isso demonstra inabilidade do hospedeiro com colestase extra-hepática em eliminar bactérias e a permanência de bactérias viáveis nos órgãos estaria associada à bacteremia continuada.

Outro experimento para avaliar função reticuloendotelial e translocação bacteriana, foi realizado por DING e colaboradores⁴⁷, em ratos com tempos diferentes de obstrução biliar ou ligadura simulada do DB. Utilizou-se, para o estudo da função reticuloendotelial, injeção intravenosa de suspensão de *Escherichia coli* marcadas com iodo radioativo e cálculo do índice fagocitário, com intervalos entre 2 e 15 minutos. Ocorreu significativa diminuição do índice fagocitário em ratos com icterícia já a partir do terceiro dia, mas sem diferença significativa até 2 semanas, quando comparados aos ratos com trauma cirúrgico. Após três semanas de icterícia obstrutiva houve redução significativa no índice fagocitário, comparando-se aos grupos de animais com obstrução biliar pelo período de 3 dias e 1 e 2 semanas com aqueles apenas com ligadura simulada, pelo mesmo período de tempo. Como exceção, houve aumento significativo na captação de bactérias pelos pulmões nos ratos com 3 semanas de obstrução biliar quando comparados com seus controles, não ocorrendo para outros órgãos. Ocorreu translocação bacteriana acentuada para o linfonodo mesentérico nos animais com obstrução biliar, com queda na terceira semana. Apenas um rato do grupo controle, após 2 semanas de ligadura simulada do DB, apresentou cultura de linfonodo positiva. A contagem de bactérias no ceco revelou-se aumentada após duas e três semanas de icterícia, quando comparada com o grupo controle, mas sem diferença significativa, ocorrendo aumento pronunciado de *Escherichia coli* e diminuição de *Lactobacilli*. Os grupos sem obstrução biliar apresentaram alterações histológicas muito discretas no íleo terminal. O edema subepitelial, a dilatação de vasos linfáticos e o infiltrado de células inflamatórias foram mais evidentes após 3 dias e 2 semanas de icterícia obstrutiva, com diminuição das alterações

após 3 semanas. Portanto, ocorreu aumento na incidência de translocação bacteriana e diminuição da atividade do sistema reticuloendotelial, tanto na obstrução biliar de curta quanto de longa duração, o que poderia, eventualmente, explicar a alta susceptibilidade pós-operatória a complicações sépticas nos pacientes com icterícia obstrutiva.

3 MÉTODO

Foram utilizados 45 ratos Wistar adultos, machos, com peso que variou de 202 a 372 g, fornecidos pelo biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUC-PR. Antes e após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram alojados aos pares em gaiolas e mantidos com água e ração para ratos (NUVILAB-CR1, Nuvital, Curitiba) *ad libitum*.

O protocolo experimental foi submetido a apreciação da Comissão Científica do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná e foram adotados os princípios éticos para experimentação em animais¹⁰¹. As descrições anatômicas seguiram aquelas utilizadas por CASTAING e colaboradores²⁴.

3.1 GRUPOS DE ESTUDO

A população de 45 ratos foi alocada em três grupos, com exclusão dos que morreram ou foram relacionados a defeitos técnicos ao preparar o modelo.

Grupo I: composto de 14 ratos alocados ao acaso. Cada um dos animais sofreu laparotomia mediana infraumbilical de aproximadamente 3 cm, como acesso para inoculação de 2 ml da suspensão de *Escherichia coli* na concentração de 10^9 UFC/ml, na luz do íleo terminal. Após 15 minutos (n=4), 30 minutos (n=5) e 90 minutos (n=5) desse procedimento, os animais foram sacrificados.

Grupo II: composto de 20 ratos com ligadura do ducto biliar (DB) por 21 dias. Após esse período, utilizando laparotomia mediana semelhante a do grupo anterior, injetou-se 2 ml da suspensão de *Escherichia coli* 10^9 UFC/ml na luz do íleo terminal e sacrificou-se os animais após 15 minutos (n= 4), 30 minutos (n= 8) e 90 minutos (n= 8).

Grupo III: composto de 11 ratos com ligadura prévia do DB por 21 dias e em que, por laparotomia mediana infraumbilical, injetou-se 2 ml de solução salina isotônica na luz do íleo terminal. Os ratos foram sacrificados após 15 minutos (n= 3), 30 minutos (n=4) e 90 minutos (n= 4).

3.2 PREPARO DA SUSPENSÃO DE *Escherichia coli*.

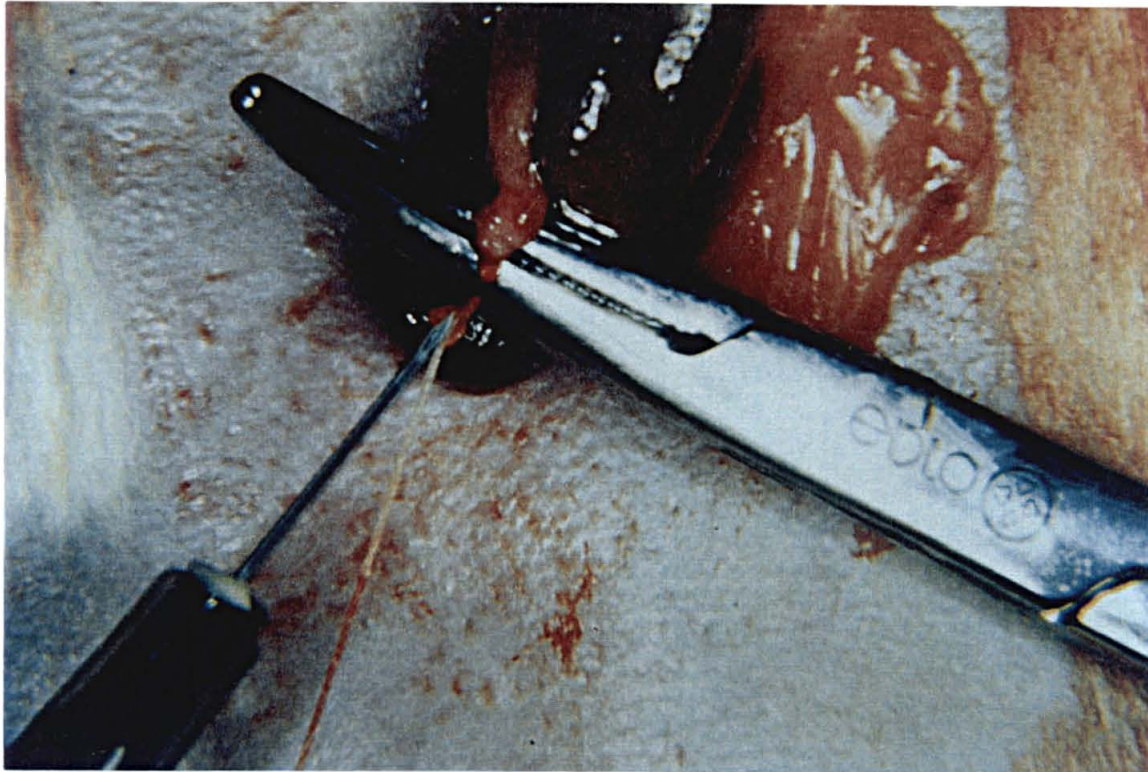
Neste estudo, foi utilizado *Escherichia coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922, cultivada em caldo de peptona e levedura (*peptone and yeast broth*) até o final da fase exponencial de crescimento em 16 horas, no Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. No fim desse prazo, lavaram-se as bactérias em solução fisiológica tamponada (pH 7,2), por três vezes, a 1700 rpm, durante 10 minutos. Suspenderam-se os bacilos novamente, na mesma solução tamponada por fosfato e ajustaram-se as concentrações por espectrofotometria (absorbância aos 540nm), que correspondem a concentração final de aproximadamente 10^9 UFC/ml. Uma amostra dessa suspensão foi separada para determinação das características do fenótipo e o resultado para a *Escherichia coli* utilizada, ficou na seguinte forma: lactose +, glicose +, produtora de gás +, lisina +, indol +, ornitina +, mobilidade +, citrato – e raminose +.

3.3 TÉCNICA OPERATÓRIA

3.3.1 Obstrução biliar extra-hepática

Os animais do Grupo II e do Grupo III foram submetidos à anestesia inalatória com éter etílico, pesados e colocados em decúbito dorsal. Após tricotomia, antissepsia da região operatória com álcool iodado e proteção adjacente com campo fenestrado esterilizado, foi realizada laparotomia mediana alta de aproximadamente 3 cm. Em seguida, o ducto biliar (DB) foi identificado e isolado na sua porção média, como ilustrado na figura 1, efetuando-se dupla ligadura na porção proximal alta com fio de algodão 4-0 e cabendo ligadura simples ao segmento distal. A secção do DB foi praticada entre as regiões ligadas, como recomendado por LEE⁶⁹. Sutura da parede abdominal em dois planos com fio de polipropileno monofilamentar 5-0. Após o procedimento, os animais foram recolocados nas gaiolas com acesso à água e ração *ad libitum*.

FIGURA 1: Ducto biliar dissecado para ligadura, indicado pela extremidade da agulha



3.3.2 Inoculação da suspensão de *Escherichia coli* ou solução salina isotônica.

Aos 21 dias, todos os animais foram submetidos aos mesmos procedimentos de anestesia já descritos. Foram igualmente pesados e imobilizados em decúbito dorsal, assim como foram observados todos os procedimentos preparatórios para a laparotomia. Foi realizada incisão mediana baixa de aproximadamente 3 cm, o íleo terminal foi identificado e exteriorizado da cavidade abdominal pela incisão. A 3 cm da junção ileo-cecal, o íleo terminal foi ligado com fio de algodão 3-0, com o cuidado de não comprometer vasos do mesentério, como ilustrado na figura 2. Introdução oblíqua de agulha 30 G $\frac{1}{2}$, no segmento ileal, num ângulo de aproximadamente 15°, acoplada a uma seringa de 10 ml contendo 2ml da solução salina isotônica para o Grupo III ou 2ml da suspensão de *Escherichia coli* para os Grupos I e II. Após a presunção de que a ponta da agulha atravessou a parede e penetrou a luz intestinal, inoculou-se o conteúdo de forma lenta e progressiva, com enchimento do íleo em direção proximal. O local da punção foi observado por cerca de 15 segundos, com a finalidade de surpreender quaisquer extravasamentos. O íleo terminal foi recolocado na cavidade abdominal. Sutura da parede abdominal em plano único com fio de polipropileno monofilamentar 5-0 e retorno às gaiolas até o momento do sacrifício, conforme o tempo estipulado para cada grupo.

FIGURA 2: Ligadura do íleo terminal, indicado pela seta.

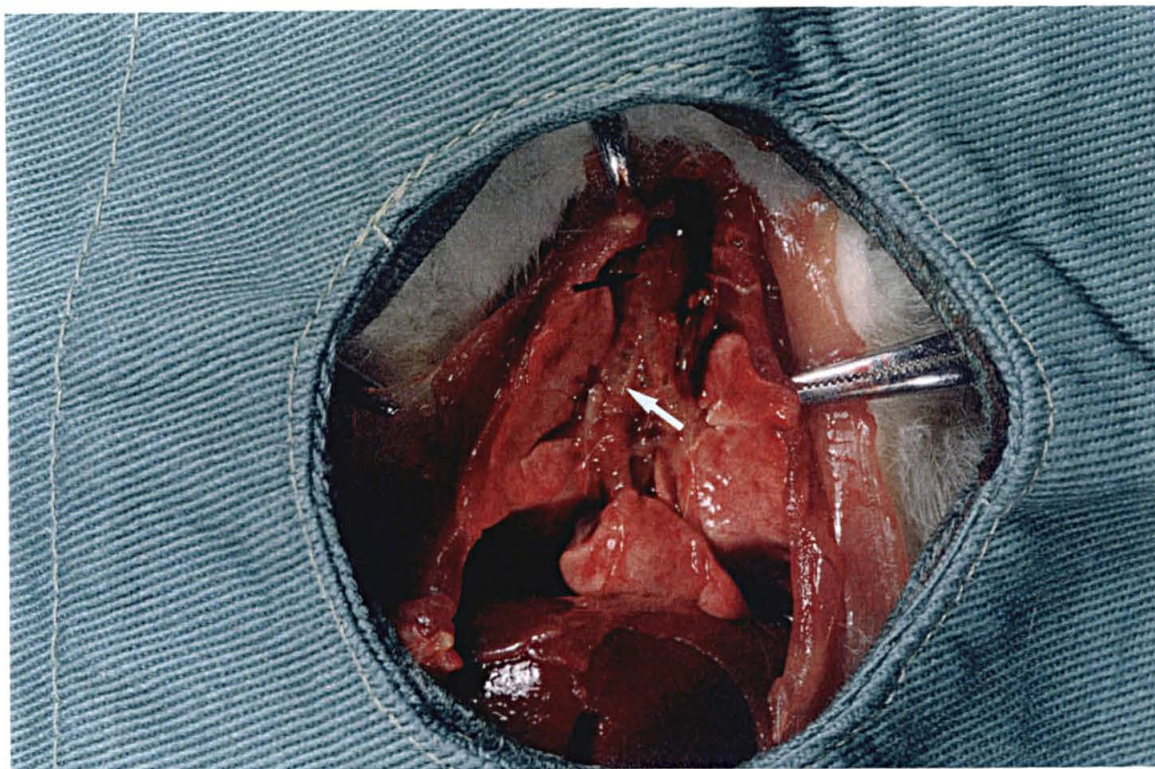


3.3.3 Sacrifício

Independente da suspensão injetada, todos os animais foram submetidos à anestesia semelhante aquela dos procedimentos anteriores. O preparo que antecedeu a laparotomia foi o mesmo que foi observado anteriormente. Sempre utilizando instrumental esterilizado, procedeu-se a incisão xifo-púbica que incluiu o peritônio. Ainda em condições estéreis, foi retirado um fragmento padronizado de cada órgão para bacteriologia, exceto o linfonodo mesentérico que foi totalmente enviado para cultura. O linfonodo e os fragmentos dos órgãos foram lavados em solução salina isotônica e acondicionados, individualmente, em placas Rodac 60x10 mm esterilizadas e pesados em balança eletrônica (OHAUS Standard Precision). As placas Rodac foram utilizadas como meio de transporte ao laboratório. A seqüência das colheitas teciduais foi iniciada com a retirada do linfonodo mesentérico e hemostasia perfeita dos seus vasos circundantes. Utilizando seringa de 10 ml acoplada a agulha 22 G1¼, foi retirado 1ml de sangue da veia porta, o qual foi colocado em tubo contendo 9 ml de caldo críptico de soja para cultura. Da mesma forma e com material semelhante, foi efetuada punção da veia cava inferior abaixo da desembocadura das veias renais, para obtenção da maior quantidade possível de sangue, sendo 1ml colocado em tubo para cultura. O 1/3 inferior

do tórax foi aberto e as vísceras expostas. Imediatamente foi injetado no ventrículo esquerdo 10 ml de solução salina isotônica. Ao retornar à cavidade abdominal, foi retirado o baço, cortado em três partes, cujo 1/3 médio foi destinado para microbiologia. A retirada do fígado foi cuidadosa, no intuito de se identificar precisamente os cotos do DB nos Grupos II e III. Colheita de fragmento do lobo hepático direito para cultura. O rim esquerdo foi dissecado e retirado. Com os mesmos cuidados foi removido o coração. A traquéia e os brônquios principais foram dissecados, como ilustrado na figura 3, e ligados separadamente com fio algodão 4-0. Secção do brônquio direito distal a ligadura para retirada do órgão e desse, o lobo médio para cultura. Antes de retirar o pulmão esquerdo, foi injetada solução de formol a 10% na luz da traquéia até observar reconstituição do volume aproximado do órgão. O íleo terminal foi novamente ligado 4 cm aquém da oclusão e na luz desse segmento foi injetado formol a 10%, com retirada do segmento entre as ligaduras. O fígado, baço, rim esquerdo, pulmões e o íleo terminal foram acondicionados individualmente em frascos contendo solução de formol a 10%, para estudo dos tecidos por microscopia óptica. Os órgãos foram pesados em balança eletrônica, acrescidos dos pesos dos fragmentos, com exceção do pulmão esquerdo e do íleo terminal.

FIGURA 3: Traquéia e brônquios dissecados, após a retirada do coração, como indicado pelas setas preta e branca respectivamente.



Tomou-se o cuidado de se duplicarem os valores do pulmão, assumindo-se que seu peso e a distribuição do inóculo foram simétricos⁸⁹.

3.4 MICROBIOLOGIA

Após a chegada ao Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, os fragmentos do baço, do fígado, do pulmão direito e o linfonodo mesentérico foram macerados com quantidade suficiente para completar o volume de 3 ml em solução de cloreto de sódio 0,9%, sob fluxo laminar, em homogeneizadores com bulbos especiais para a fragmentação dos tecidos. A seguir, as amostras foram semeadas em alíquotas de 1 ml, em duplicata, placas A e B. Isso significa que as primeiras culturas já apresentaram diluição de 1:3 e após, com o 1 ml restante, foram realizadas diluições de 10^{-1} à 10^{-3} , em placas de Petri contendo 20 ml de suspensão de ágar Mac Conkey, meio de cultura seletivo para bacilos gram-negativos.

As amostras para hemocultura com 1 ml de sangue foram coletadas em 9 ml de caldo críptico de soja e incubadas por 7 dias a 36° C e inspecionadas diariamente para verificação da existência ou não de crescimento bacteriano.

Os meios semeados foram incubados por 48 horas em estufa a 36° C e ao final foram contadas as colônias em cada placa, observando-se a característica das colônias de *Escherichia coli* para este meio, ou seja, colônias vermelhas ou rosadas. A quantidade de bactérias na amostra foi calculada, expressa em Unidade Formadora de Colônias por grama da amostra (UFC/g da amostra), utilizando-se a fórmula^{82, 83}:

$$\text{UFC/g da amostra} = \frac{\text{UFC/placa} \times 3 \times \text{fator de diluição}}{\text{Peso da amostra (g)}}$$

A seguir, transformaram-se os valores quantitativos de Unidades Formadoras de Colônias por grama, em logaritmos decimais (log UFC/g).

Realizou-se identificação fenotípica das bactérias cultivadas nas placas de ágar-Mac Conkey, através de biotipagem da *Escherichia coli* com as provas descritas anteriormente.

3.5 HISTOLOGIA

As amostras histológicas dos tecidos foram processadas no Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os fragmentos foram incluídos em parafina e seccionados em fatias com micrótomo de espessura conforme técnica padronizada. Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina (H.E.) e examinados ao microscópio óptico.

A histologia dos pulmões, rim e baço comparou-se ao controle.

No estudo tecidual do fígado, avaliou-se colestase pela presença de proliferação ductal, fibrose periductal e alterações das células de Kupffer.

Para o íleo terminal, avaliaram-se as vilosidades de cada campo, pela classificação sugerida por MONTGOMERY e colaboradores⁷⁸.

0 = Intestino normal

1 = Desenvolvimento de pequeno espaço subepitelial na extremidade da vilosidade.

2 = Separação do epitélio na extremidade da vilosidade.

3 = Separação maciça da mucosa, inclusive da porção lateral da vilosidade.

4 = Desnudação das vilosidades ou perda de parte do epitélio.

5 = Desintegração da lâmina própria, hemorragia e ulceração da mucosa.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As hipóteses iniciais estabelecem que as amostras analisadas, constituídas de ratos independentes, não apresentam diferença significativa de recuperação bacteriana, a nível de significância de 5%.

A análise da variância para teste de hipóteses foi realizada através da estatística F , com probabilidade obtida pela distribuição de Snedecor^{29, 70}, calculada pela análise da variância ANOVA. Para estudo de diferenças significativas utilizou-se o teste paramétrico t de Student.

Adicionalmente à estatística F , como critério alternativo dos testes paramétricos, utilizou-se a análise da variância H de Kruskal-Wallis. Para teste de diferenças, aplicou-se os testes de Tukey e Scheffé, para amostras de tamanho igual e diferente, respectivamente^{29, 70}.

4 RESULTADOS

Os 45 ratos selecionados para compor os três grupos de estudo foram aqueles onde não ocorreu contaminação da região operatória no momento da inoculação da suspensão de *Escherichia coli*, por transfixação da parede do íleo terminal ou gotejamento dentro da cavidade peritoneal. Quando isto ocorreu, o rato foi eliminado e substituído.

Não ocorreu morte entre os ratos após receberem a injeção na luz do íleo terminal, independente do tempo de espera para o sacrifício ou do inóculo.

4.1 ACHADOS MACROSCÓPICOS

Os ratos dos grupo II e III apresentaram sinais de icterícia intensa na primeira semana de obstrução do DB, com impregnação amarela dos pelos e colúria. Ao atingirem 21 dias de obstrução do DB, a impregnação dos pelos já não era evidente, mas permaneciam com colúria.

No sacrifício para retirada dos órgãos e tecidos, nenhum animal apresentou líquido livre na cavidade peritoneal. Não se percebeu dilatação do íleo terminal à montante da ligadura, mesmo após 90 minutos. Nos grupos II e III, o fígado era congesto, com bordas rombas e o ducto biliar comum apresentava-se tenso, dilatado e com aderências das vísceras ao seu redor, como ilustrado na figura 4. Não houve recanalização perceptível do DB. Nos outros órgãos examinados não se perceberam alterações macroscópicas.

4.2 HISTOLOGIA GERAL

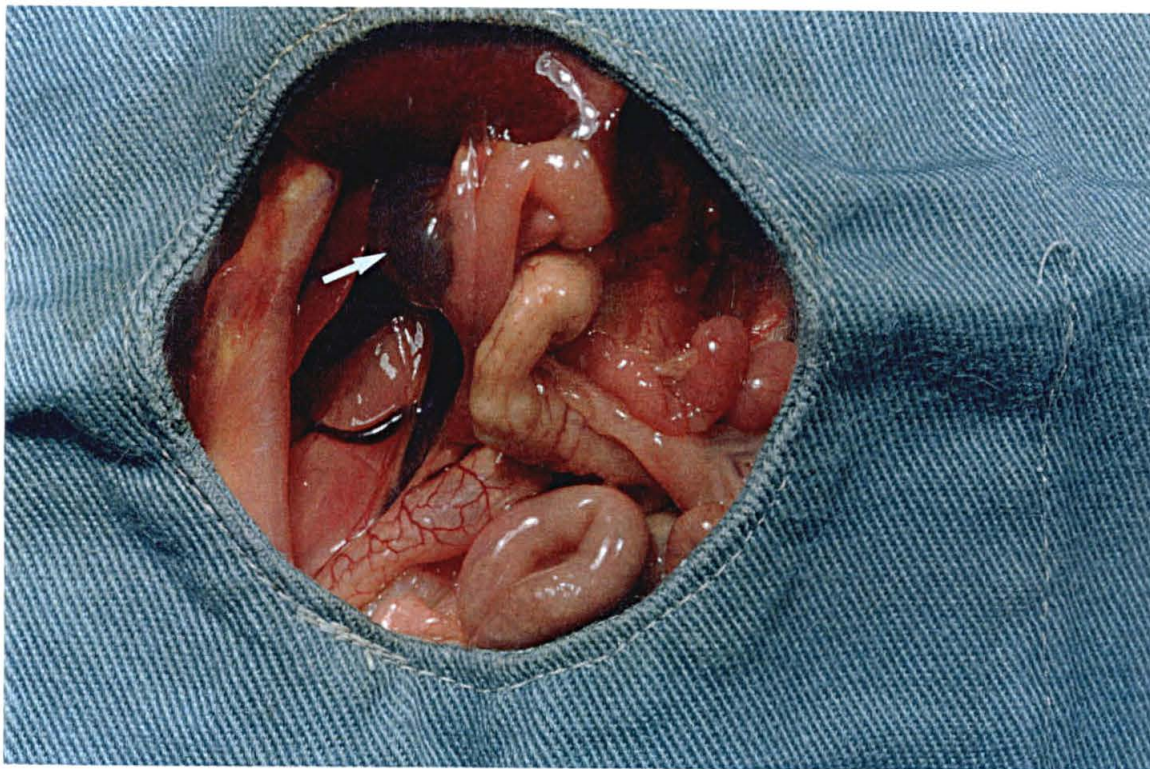
4.2.1 Histologia do fígado

No grupo I, de ratos controles, o tecido hepático apresentou características normais, como mostrado na figura 5.

Nos grupos II e III, observou-se notável aumento no número dos ductulos biliares, invadindo a lâmina limitante do espaço portal, substituindo os hepatócitos adjacentes, como se mostra na fotomicrografia da figura 6. A deposição de colágeno nessa região foi mínima e

a infiltração por células inflamatórias foi insignificante. As células com características microscópicas compatíveis com as de Kupffer apresentaram hiperplasia e hipertrofia.

FIGURA 4: Achados macroscópicos após 21 dias de colestase extra-hepática. A seta indica o ducto biliar dilatado.



4.2.2 Histologia do baço

Não se encontraram diferenças expressivas entre os grupos estudados, exceto pela presença de congestão vascular nos grupo com icterícia, ou seja, grupos II e III.

FIGURA 5: Histologia do fígado no controle. (H.E. 100 x)

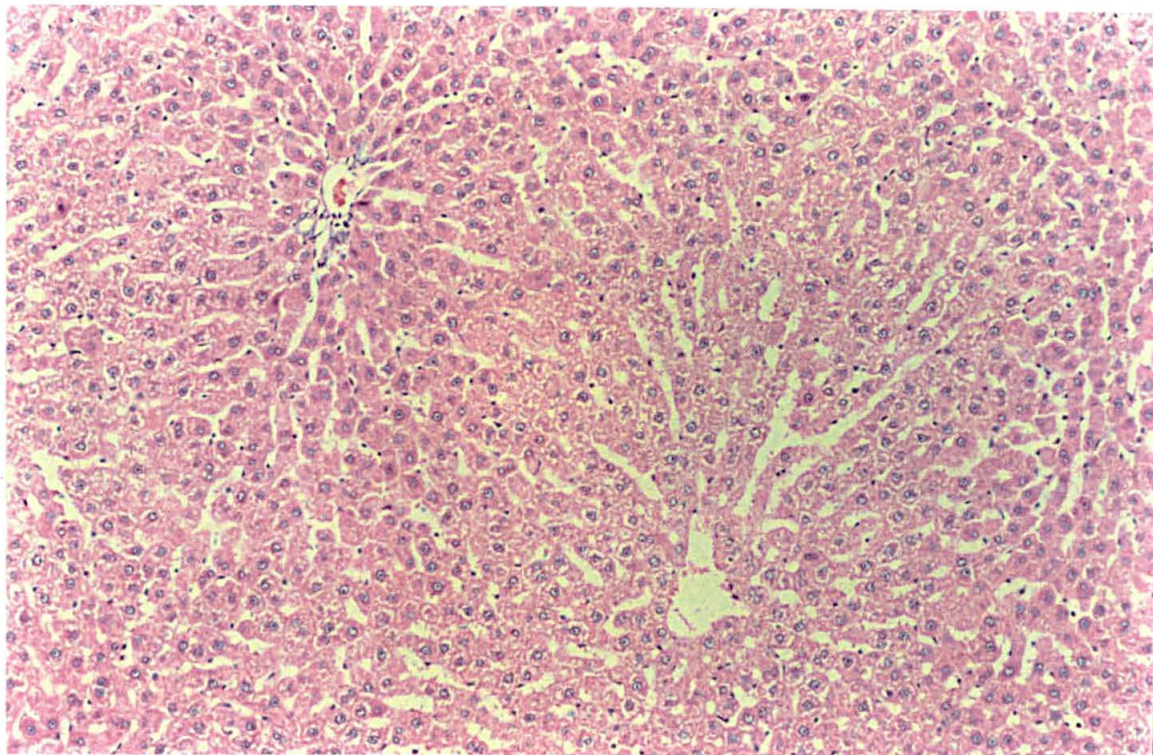
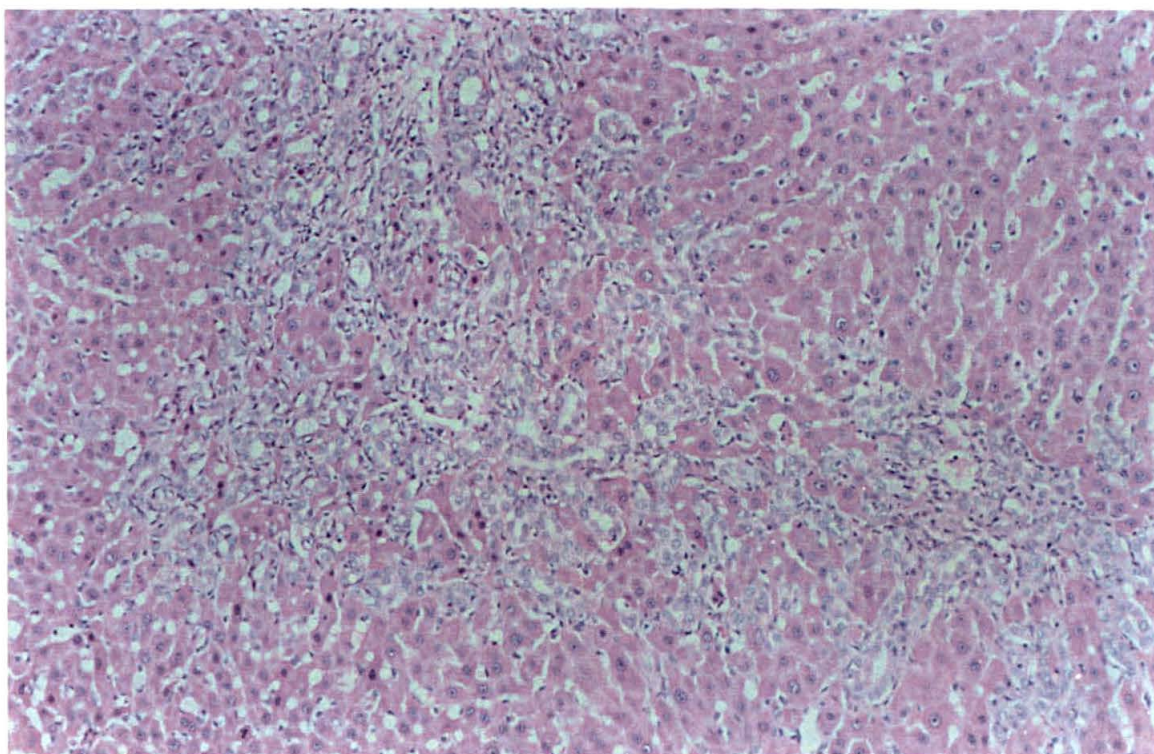


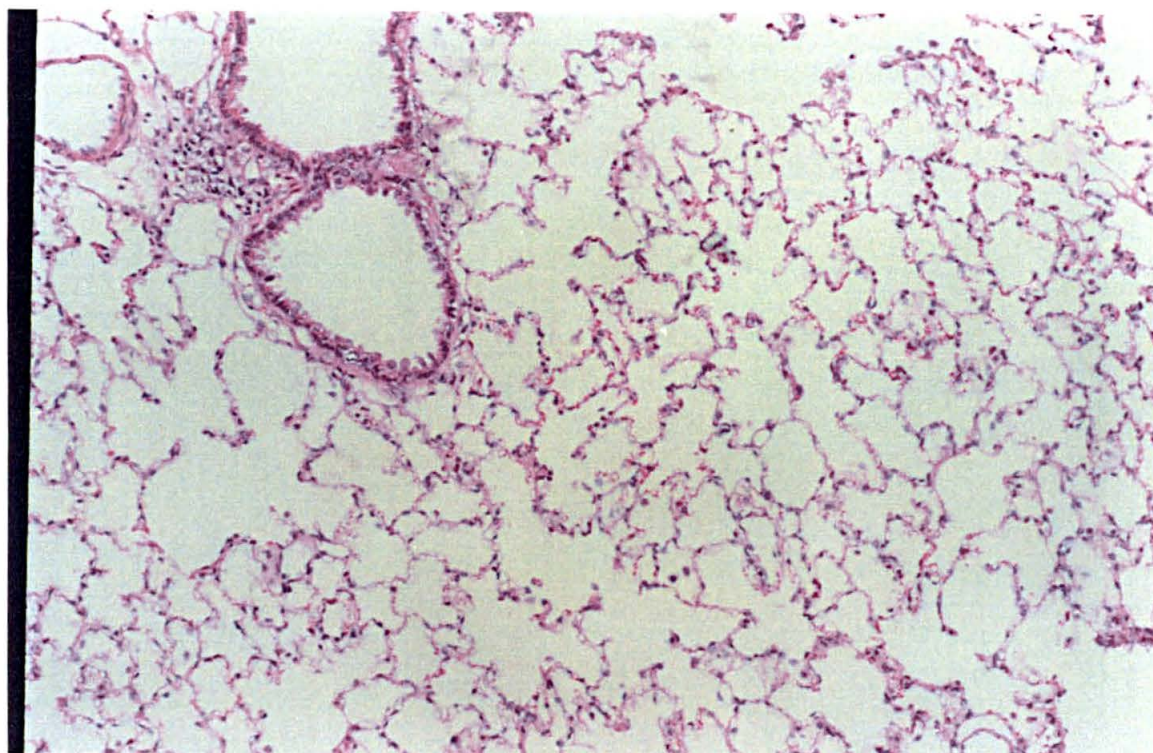
FIGURA 6: Histologia do fígado após 21 dias de obstrução biliar. Observa-se proliferação ductal que ultrapassa a lâmina limitante. (H.E. 200 x)



4.2.3 Histologia do pulmão

Os aspectos microscópicos dos grupos com icterícia prolongada foram semelhantes aos do grupo controle, e estão ilustrados na figura 7. Não houve ocorrência de edema septal nos grupos em estudo.

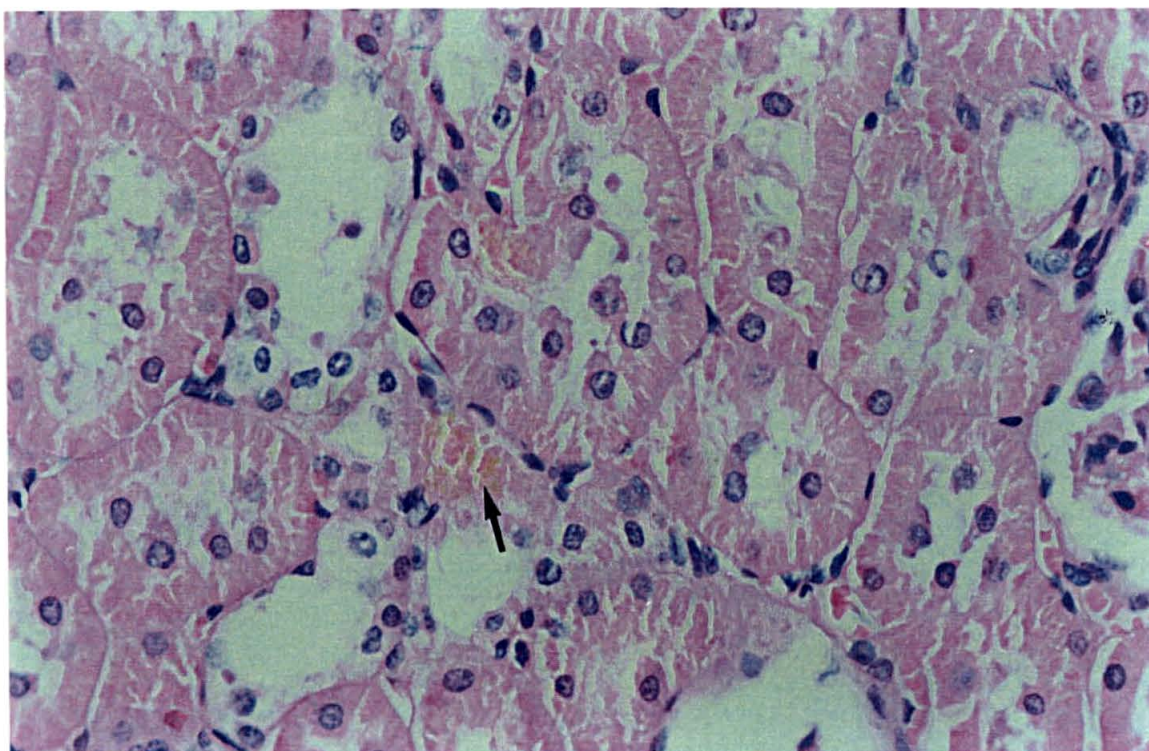
FIGURA 7: Histologia do pulmão após 21 dias de obstrução biliar. Não apresenta alterações em relação ao controle. (H.E. 100 x)



4.2.4 Histologia do rim

Os aspectos teciduais dos controles foram normais, evidenciando-se diferença nos ratos icterícos, pela presença nestes, de depósitos de pigmentos biliares no epitélio dos túbulos contornados e degeneração hidrópica citoplasmática, definida histologicamente como nefropatia colestática e mostrado na figura 8.

FIGURA 8: Histologia do rim após 21 dias de obstrução biliar. A seta mostra depósito de pigmento biliar nos ductos contornados.(H.E. 400 x)



4.2.5 Histologia do íleo terminal

Os ratos do grupo controle apresentaram mucosa normal com vilosidades revestidas por células colunares, de núcleos basais alongados e bordas estriadas nítidas. Em todos ratos icterícos o íleo terminal apresentou alteração, caracterizada pela presença de edema subepitelial que foi graduado conforme estabelecido nos métodos e mostrado nas tabelas 1, 2 e 3 e ilustrado nas figuras 9 e 10.

TABELA 1: Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 15 minutos.

Grupo / Grau	Ausente	1	2	3	4 e 5
I	4	0	0	0	0
II	0	0	2	2	0
III	0	0	2	1	0

TABELA 2: Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 30 minutos.

Grupo / Grau	Ausente	1	2	3	4 e 5
I	5	0	0	0	0
II	0	0	4	4	0
III	0	0	2	2	0

TABELA 3: Número de ratos com edema subepitelial no íleo sacrificados em 90 minutos.

Grupo / Grau	Ausente	1	2	3	4 e 5
I	5	0	0	0	0
II	0	0	3	5	0
III	0	0	1	3	0

FIGURA 9: Histologia do íleo terminal após 21 dias de obstrução biliar - alteração grau 2.
A seta indica presença de edema subepitelial. (H.E. 200 x)

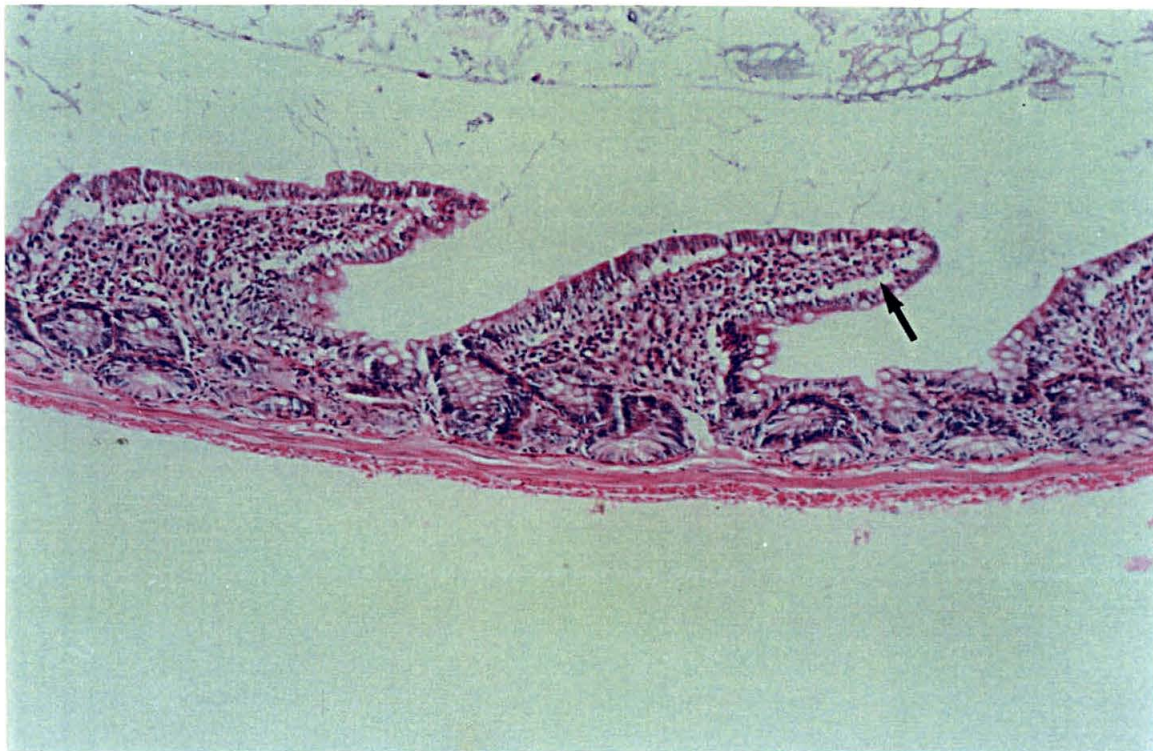
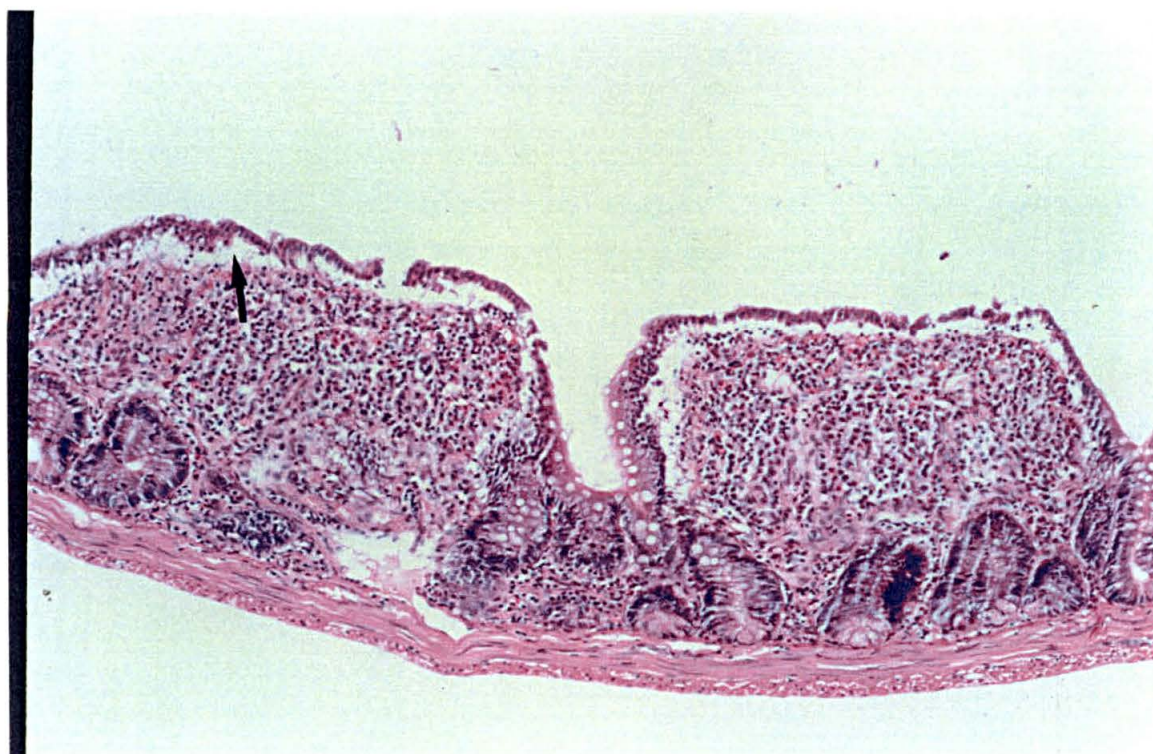


FIGURA 10: Histologia do íleo terminal após 21 dias de obstrução biliar - alteração grau 3.
A seta indica presença de edema subepitelial. (H.E. 200 x)



4.3 PESO DOS RATOS E DOS ÓRGÃOS

Entre os grupos I, II e III não havia aumento significativo do peso dos ratos.

Nos ratos dos grupos II, com colestase de 21 dias, ocorreu aumento significativo do peso dos órgãos, como percentual do peso corpóreo, no fígado, baço e pulmão, neste exceto aos 15 minutos. O rim não apresentou diferença em relação ao controle.

No grupo III não houve diferença significativa apenas no baço e linfonodo mesentérico aos 30 minutos e no pulmão aos 90 minutos.

A média dos percentuais do peso corpóreo, que cada órgão representou nos grupos, estão resumidos nas tabelas 4, 5, e 6.

TABELA 4: Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo médio dos ratos sacrificados em 15 minutos.

GRUPO	FÍGADO	BAÇO	LINFONODO	PULMÃO	RIM
I	3,88%	0,19%	0,12%	0,35%	0,38%
II	6,58%*	0,41%*	0,07%	0,35%	0,46%
III	6,24%*	0,43%*	0,84%*	0,84%	0,37%

TABELA 5: Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo médio dos ratos sacrificados em 30 minutos.

GRUPO	FÍGADO	BAÇO	LINFONODO	PULMÃO	RIM
I	4,00%	0,23%	0,13%	0,13%	0,41%
II	7,35%*	0,45%*	0,05%*	0,44%*	0,40%
III	5,92%*	0,33%	0,33%	0,64%*	0,64%

TABELA 6: Representação do peso médio dos órgãos como percentual do peso corpóreo médio dos ratos sacrificados em 90 minutos.

GRUPO	FÍGADO	BAÇO	LINFONODO	PULMÃO	RIM
I	4,03%	0,16%	0,10%	0,28%	0,35%
II	7,42%*	0,47%*	0,07%*	0,51%*	0,37%
III	6,55%*	0,56%*	0,19%*	0,56%	0,45%

* Em relação ao grupo I apresenta diferença significativa.

4.4 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO log (UFC) / grama DOS ÓRGÃOS E TECIDOS

No grupo III, composto por ratos ictericos que receberam injeção no lume do íleo terminal de solução de cloreto de sódio 0,9%, não se registraram colônias nas placas de cultura, de todas as amostras de tecidos examinadas.

As figuras demonstrativas das concentrações dos valores médios para os grupos I e II estão representados nos estudos comparativos.

4.4.1. Fígado

No grupo I, as concentrações médias de UFC/g de tecido não apresentaram diferença significativa entre os tempos observados. A concentração maior ocorreu após 90 minutos.

No grupo II, com colestase, os resultados não apresentaram diferenças significativas, com concentração maior em 15 minutos.

4.4.2. Pulmão

No grupo I, as concentrações nos tempos avaliados não apresentaram diferença significativa.

No grupo II, aos 15 minutos, ocorreu a maior concentração de bactérias entre os ratos com icterícia. Houve diminuição significativa em 30 e 90 em relação às concentrações em 15 minutos.

4.4.3. Baço

No grupo I, aos 15 minutos, ocorreu a maior concentração da média de UFC/g de tecido entre todos os órgãos e tempos. Não houve diferença significativa para 30 e 90 minutos.

No grupo II, como no anterior, não ocorreu diferença entre os tempos examinados.

4.4.4. Linfonodo Mesentérico.

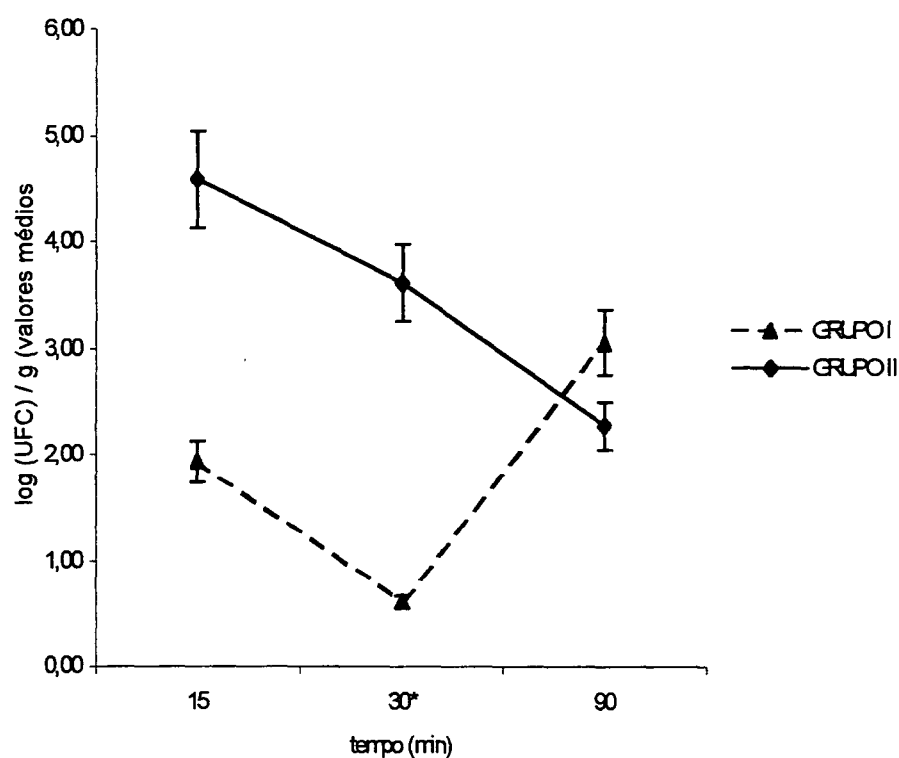
Nos grupos I e II não ocorreu diferença significativa das concentrações entre os tempos examinados. Observou-se grandes concentrações médias de UFC/g de tecido em todos os tempos.

4.5. COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO log (UFC) / g ENTRE OS ÓRGÃOS E TECIDOS.

4.5.1. Fígado

No grupo II, aos 15 minutos, ocorreu concentração de bactérias consistentemente maior em relação ao grupo I ($p=0,10$) e significativamente maior em 30 minutos ($p=0,03$). Aos 90 minutos não apresentou diferença entre os grupos. Os resultados estão demonstrados na figura 11.

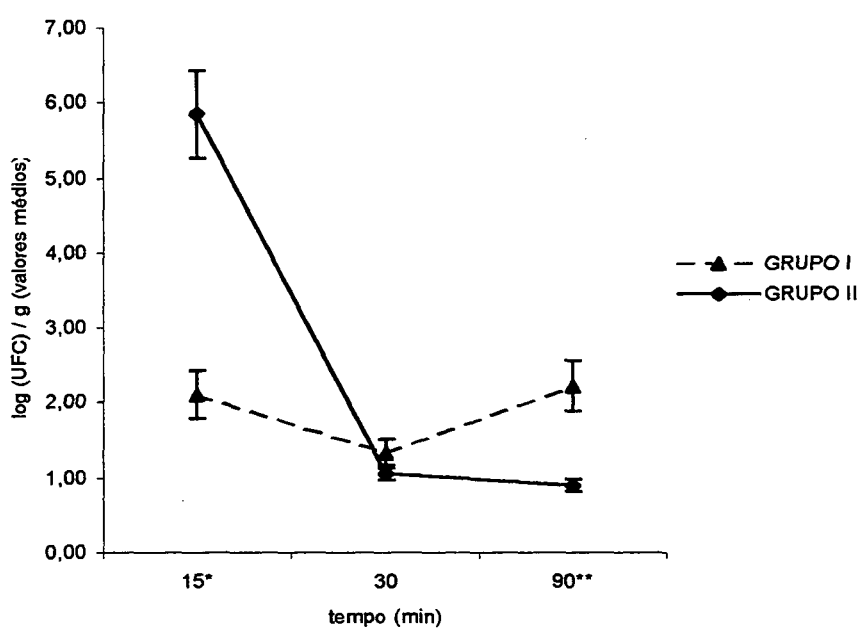
FIGURA 11: Comparação da concentração média do log (UFC) / g de fígado entre os grupos I e II. * ($p = 0,03$)



4.5.2. Pulmão

A concentração de bactérias no grupo II, aos 15 minutos, foi significativamente maior, com diminuição das concentrações aos 30 minutos. Aos 90 minutos, ocorreu aumento significativo de concentração de bactérias no grupo I. Os resultados estão demonstrados na figura 12.

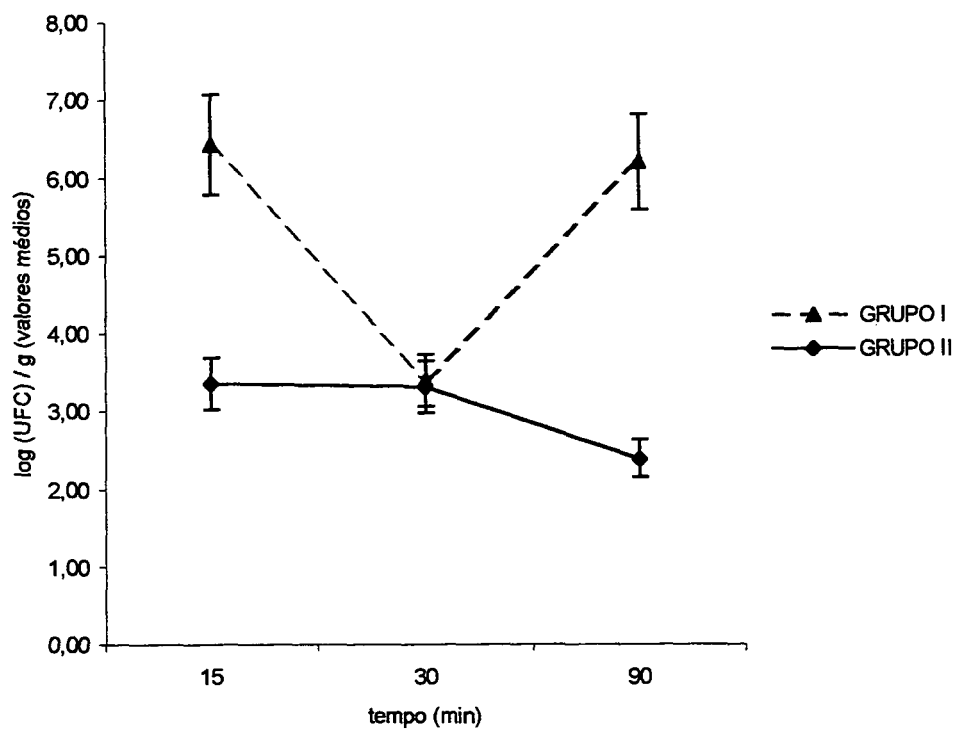
FIGURA 12: Comparação da concentração média do log (UFC) / g de pulmão entre os grupos I e II. * (p = 0,02), ** (p = 0,01)



4.5.3. Baço

Não ocorreu diferença significativa entre os grupos. Aos 15 e 90 minutos a concentração foi mais notável no grupo I. Os resultados estão demonstrados na figura 13.

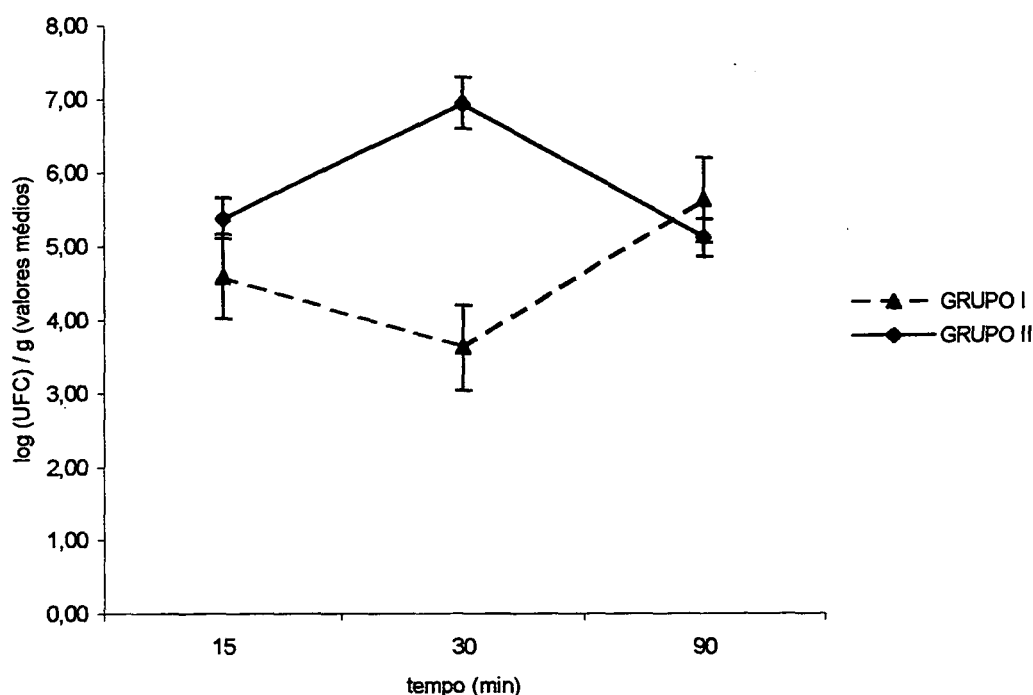
FIGURA 13: Comparação da concentração média do log (UFC) / g de baço entre os grupos I e II .



4.5.4. Linfonodo Mesentérico

A concentração foi maior aos 30 minutos no grupo II, mas sem diferença significativa entre os grupos. Os resultados estão demonstrados na figura 14.

FIGURA 14 : Comparação da concentração média do log (UFC) / g de linfonodo entre os grupos I e II.



4.6. PERCENTUAL DE OCORRÊNCIA DE RECUPERAÇÃO BACTERIANA DOS ÓRGÃOS E TECIDOS NOS GRUPOS I E II

Os órgãos e tecidos que apresentaram colônias nas placas de cultura estão expressos nas tabelas 7 e 8. Houve diferença significativa na redução da ocorrência de culturas positivas no pulmão dos ratos do grupo II entre 15 e 30 minutos e entre 15 e 90 minutos. Não ocorreu desenvolvimento de colônias nas placas de culturas do grupo III.

TABELA 7: Percentual de ocorrência de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos no Grupo I.

Órgão / Tempo de Sacrificio	15 minutos	30 minutos	90 minutos
Linfonodo mesentérico	100 %	80 %	80 %
Fígado	75 %	0 %	60 %
Baço	75 %	40 %	60 %
Pulmão	75 %	0 %	40 %

TABELA 8: Percentual de ocorrência de recuperação bacteriana dos órgãos e tecidos no Grupo II

Órgão / Tempo de Sacrifício	15 minutos	30 minutos	90 minutos
Linfonodo mesentérico	100 %	87,5 %	100 %
Fígado	100 %	75 %	87,5 %
Baço	75 %	37,5 %	50 %
Pulmão	100 %	0 %	25 %

4.7. COMPARAÇÃO PERCENTUAL NA OCORRÊNCIA DE RECUPERAÇÃO BACTERIANA DOS ÓRGÃOS E TECIDOS ENTRE OS GRUPOS I E II

Houve diminuição significativa na ocorrência de colônias de bactérias no fígado somente aos 30 minutos, como ilustrado na figura 15. Nos demais órgãos não ocorreram diferenças qualitativas que fossem significativas como mostrado nas figuras 16, 17 e 18.

FIGURA 15: Comparação percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no fígado entre os grupos I e II. *(p = 0,005)

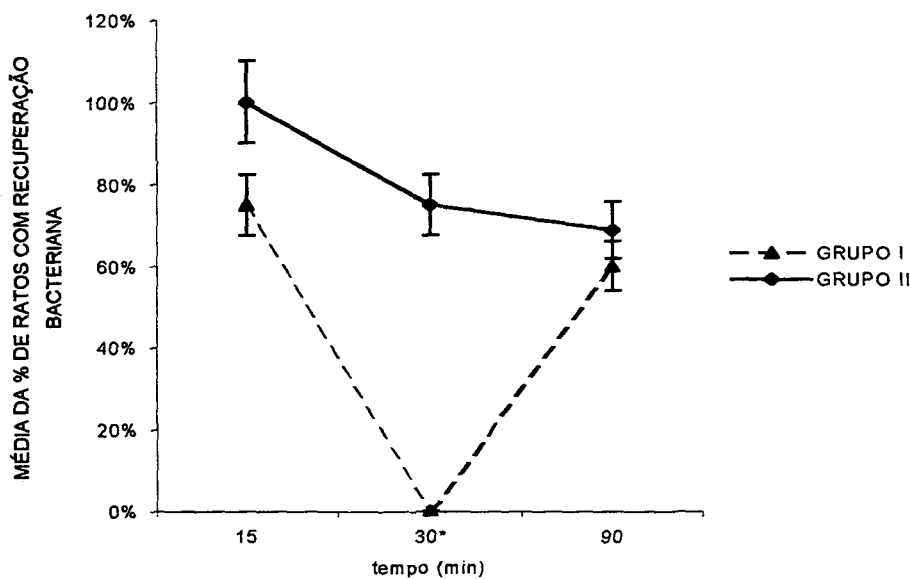


FIGURA 16: Comparação percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no pulmão entre os grupos I e II.

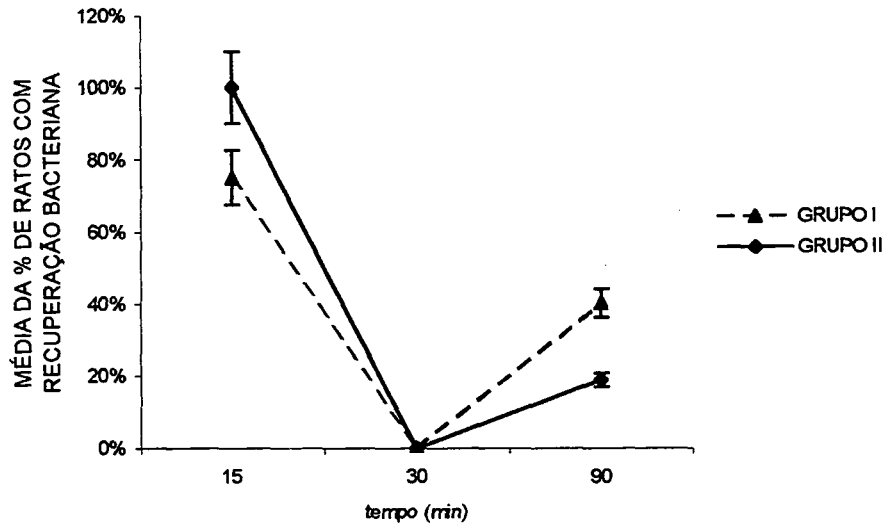


FIGURA 17: Comparação percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no baço entre os grupos I e II.

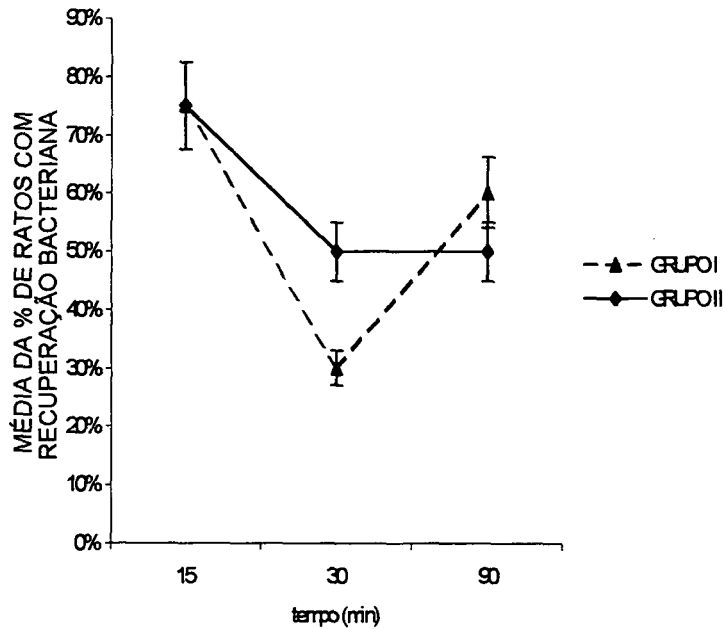
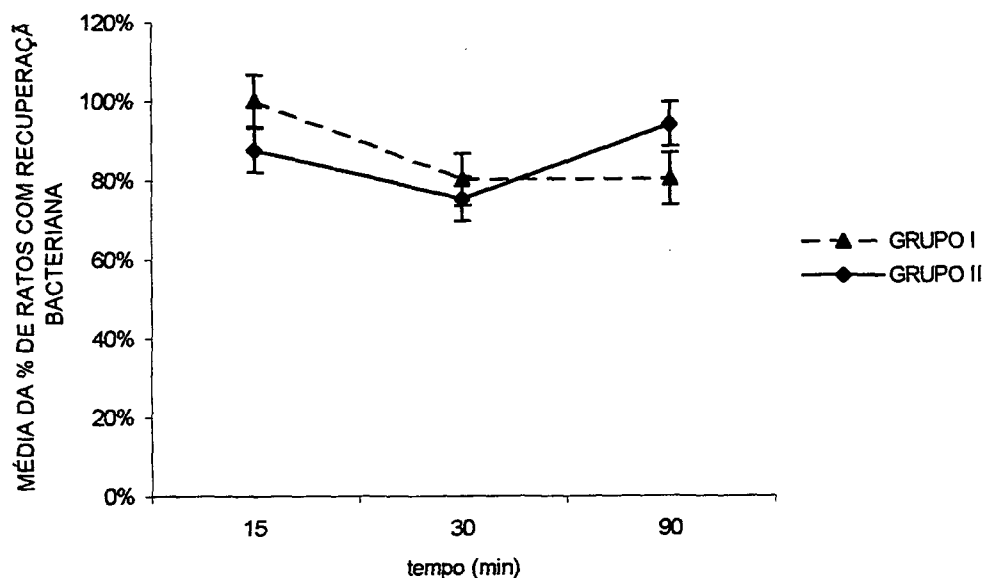


FIGURA 18: Comparação percentual na ocorrência de recuperação bacteriana no linfonodo mesentérico entre os grupos I e II..



4.8. CONCENTRAÇÃO MÉDIA DO log (UFC) / ÓRGÃO OU TECIDO

O total da média dos valores das UFC/g foi vinculado ao peso total dos órgãos, exceto o linfonodo mesentérico que foi enviado inteiro para cultura. Ocorreu diferença significativa entre todos os tempos avaliados no fígado, com o total por órgão predominando no grupo II, conforme gráfico 19. No pulmão houve diferença significativa aos 30 e 90 minutos, com os valores maiores ocorrendo no grupo II e mostrado no gráfico 20. No baço a diferença significativa se estabeleceu apenas aos 30 minutos, e como nos órgãos previamente relatados, o predomínio ocorreu no grupo II e pode ser observado no gráfico 22.

FIGURA 19: Comparação da média do log (UFC) / fígado entre os grupos I e II.

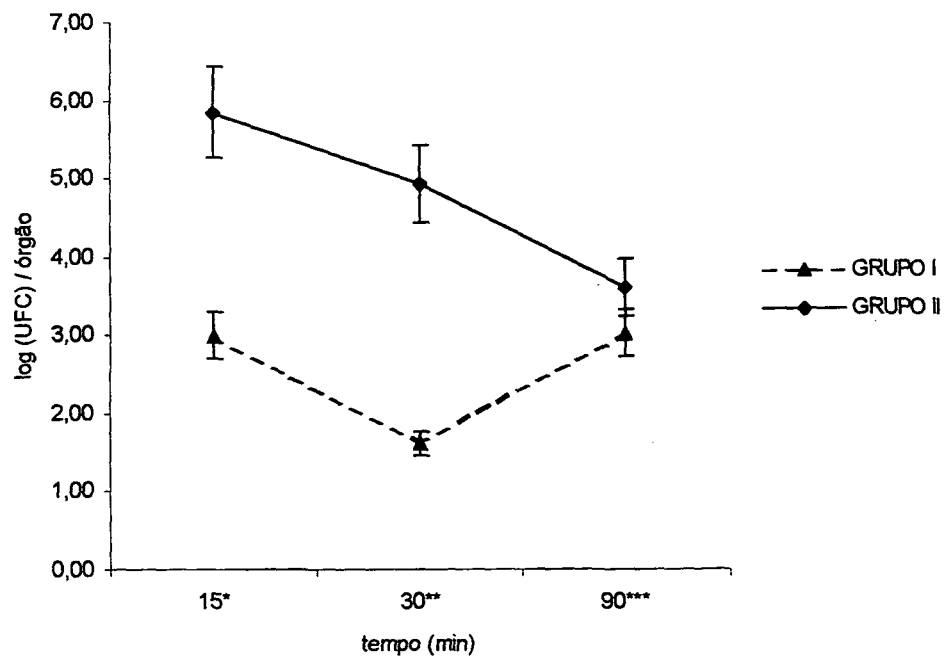
*($p = 0,003$), **($p < 0,001$), ***($p < 0,001$)

FIGURA 20: Comparação da média do log (UFC) / pulmão entre os grupos I e II.

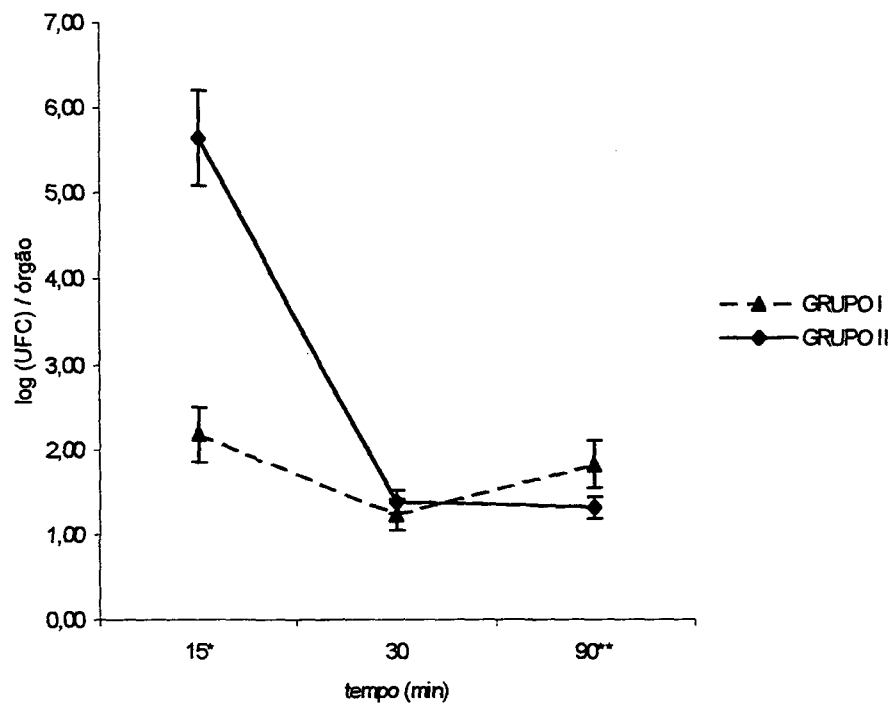
*($p = 0,0004$), **($p = 0,04$)

FIGURA 21: Comparação da média do log (UFC) / baço entre os grupos I e II.

*($p = 0,02$)

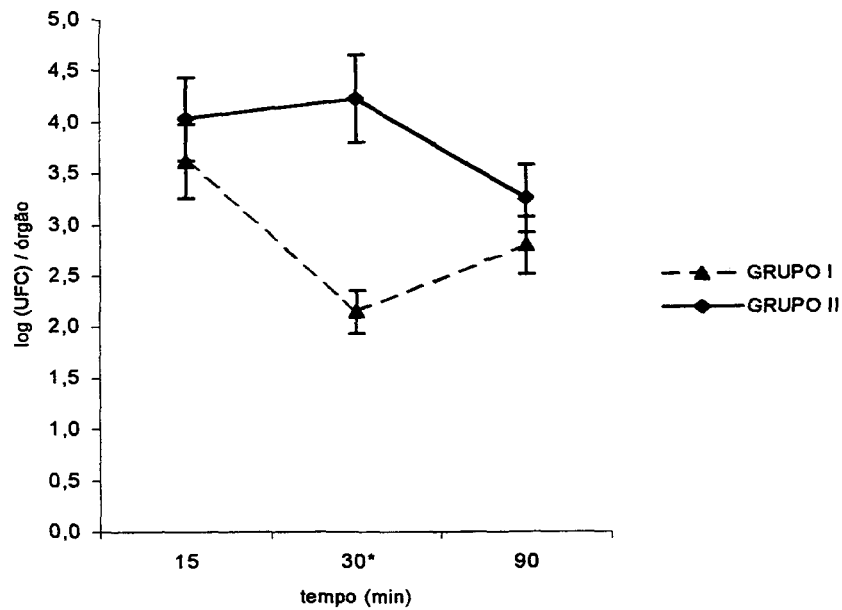
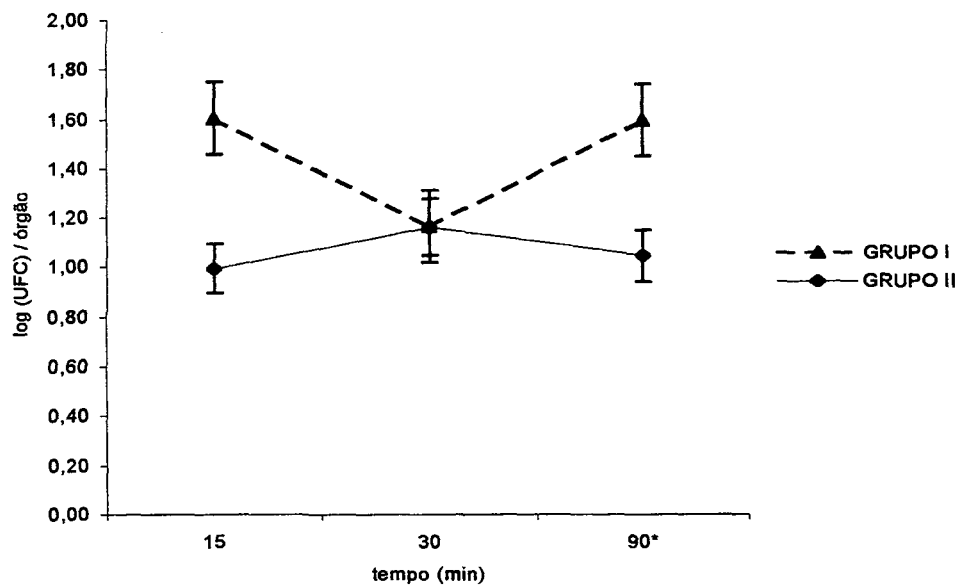


FIGURA 22 : Comparação da média do log (UFC) / linfonodo entre os grupos I e II.

*($p = 0,01$)



4.9 HEMOCULTURA

Na avaliação das hemoculturas da veia porta, houve dificuldade técnica para a coleta do sangue em 4 ratos, devido ao acesso à veia porta prejudicado por aderências locais ou por ausência de refluxo de sangue à aspiração. Os fracassos na retirada de sangue da veia porta ocorreram em 1 rato do grupo I aos 15 minutos, 1 rato do grupo II aos 30 minutos e 2 ratos do grupo III aos 30 minutos. Os resultados estão expressos nas tabelas 9 e 10.

TABELA 9 : Percentual de hemoculturas positivas para *Escherichia coli* da veia cava inferior.

Grupo / Tempo de Sacrifício	15 minutos	30 minutos	90 minutos
I	50%	40%	60%
II	75%	50%	50 %
III	0%	0%	0%

TABELA 10: Percentual de hemoculturas positivas para *Escherichia coli* da veia porta.

Grupo / Tempo de Sacrifício	15 minutos	30 minutos	90 minutos
I	66,6%	40%	60%
II	50%	50%	75%
III	0%	0%	0%

4.10 FENÓTIPO

Em todas as placas de cultura com crescimento de colônias, as amostras para o fenótipo resultaram nas características da *Escherichia coli* ATCC 25922.

5 COMENTÁRIOS

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

O rato foi utilizado neste estudo, por ser aceito como modelo para pesquisa das defesas do hospedeiro na obstrução biliar, embora existam diversos pontos de diferenças funcionais e anatômicas em relação aos seres humanos, que implicam em restrições e cuidados para aplicação clínica^{24, 97}. Os resultados neste estudo serão comparados a outros experimentos, que utilizaram ratos ou outros animais de laboratório.

A via de injeção do inóculo de *Escherichia coli* não encontra modelo similar, pois são descritos estudos com bacteremia induzida pela via venosa^{10, 47, 63, 89, 99} ou intraperitoneal^{97, 99}. A via gastrointestinal para inoculação de bactérias é descrita apenas através de gastrogavagem e utilizada em camundongos livres de germes patogênicos³³ ou modelo de trauma⁴, o que difere do objetivo deste estudo.

Na operação para a retirada dos órgãos e tecidos, iniciou-se pelo linfonodo mesentérico com objetivo de não permitir que mais bactérias ultrapassassem do ducto linfático para a circulação sistêmica, rota comprovada de translocação bacteriana^{62, 118} e, desta forma, facilitar a retirada do maior número de bactérias que estivessem na circulação sanguínea, quando substituiu-se, em parte, o sangue por solução salina isotônica. O intento dessa substituição foi recuperar principalmente as bactérias já instaladas nos tecidos.

Como achado macroscópico, a extremidade tensa e dilatada do DB, 21 dias após sua ligadura, sem extravasamento de bile, não deixa hipótese para recanalização do ducto.

5.2 MICROBIOLOGIA

Para quantificar os microorganismos que se desenvolveram nas placas de cultura, utilizou-se a unidade formadora de colônias (UFC). Cada colônia que se desenvolveu na placa pode ter-se originado, teoricamente, de uma única bactéria, de centenas delas ou mesmo de milhares. Isso ocorre porque as bactérias geralmente se unem em grupamentos coesos, cujo número de representantes é por demais variado²⁸. Significa que números aleatórios de microorganismos são semeados nas placas, fruto de verdadeiro fracasso do processo de isolamento unitário. A consequência é o erro sistemático inevitável, aceito universalmente no

atual estado dos conhecimentos. Variações de 1 a 1000 bactérias são aceitas como insignificantes, mesmo quando são utilizadas grandes diluições seriadas progressivas²⁸. No sentido de conferir a precisão do método, realizaram-se culturas em duplicata, amostras A e B respectivamente. A semelhança nas contagens confirmou a precisão do procedimento e a média de ambas aumentou o valor do teste.

Como ao reconstituir-se o que foi contado nas placas de diluições, o número de UFC/g de tecido homogeneizado por ser muito elevado, foi transformado em logaritmo de base 10 e todos os cálculos foram assim procedidos. Para tanto, foi necessário utilizar artifício nos casos em que não houve crescimento de bactérias: considerar a ausência de bactérias como 2 unidades. Esse número foi utilizado como constante k em todos os cálculos. Foi considerada correta a utilização dessa constante tanto do ponto de vista biológico – fundado no exposto acima – quanto do aspecto matemático. Nas propriedades das estatísticas, sabe-se que a adição de uma constante modifica o resultado de forma previsível e a variância da distribuição não se altera. Para fins de selecionar o número de UFC/placa, as placas de cultura com colônias incontáveis, ou seja, acima de 300 colônias/placa²⁸, foram desprezadas e a média realizada com as contagens das diluições logo inferiores.

A *Escherichia coli* é relatada como a bactéria mais encontrada no linfonodo mesentérico em estudos de translocação bacteriana na obstrução biliar^{20, 27, 38, 82, 102, 108}. É um típico microorganismo entérico Gram-negativo da microflora de ratos e camundongos e foi escolhida para promover bacteremia por apresentar, teoricamente, capacidade de testar o comportamento do SRE nessa condição. A *Escherichia coli* compreende grande número de grupos e tipos sorológicos, identificados pelos antígenos O, K e H, porém, não apresenta os três antígenos ao mesmo tempo. São conhecidos, atualmente, 171 antígenos O, 100 antígenos K e 57 antígenos H, mas a identificação de sorogrupos e sorotipos é restrita a determinadas doenças ou outras condições ecológicas¹⁰⁷. Na recuperação tecidual, as características do fenótipo da *Escherichia coli* foram testadas em todas as placas, com resultados semelhantes aos das bactérias inoculadas. As características semelhantes do fenótipo não permitem afirmar que se trate da mesma bactéria injetada, porém, podemos inferir que sim, pelos resultados evidenciados. A ausência de bactérias nos tecidos dos ratos que receberam injeção intraluminal de solução salina isotônica, reforça a hipótese anterior. Outros estudos^{10, 99} da função reticuloendotelial na obstrução biliar utilizaram

microorganismos não marcados com material radioativo e os resultados são semelhantes ao que hora se encontrou.

5.3 ALTERAÇÕES TECIDUAIS

As alterações à microscopia óptica encontradas nos ratos com 21 dias de obstrução biliar foram iguais a de outros relatos^{87, 89, 91}, comprovando que a ligadura do DB, conforme recomendado por LEE⁶⁹, foi efetiva e refletiu-se em alterações hepáticas.

Nos grupo II e III, nos quais os ratos permaneceram 21 dias com obstrução do ducto biliar (DB), todos os animais apresentaram edema subepitelial ao exame microscópico do íleo terminal, graduados conforme proposta de MONTGOMERY⁷⁸. Trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa^{55, 89}, com a observação de todos os graus de lesão da mucosa do íleo terminal, permitiram a classificação dos achados neste estudo, apenas nos graus 2 e 3. Muitos pesquisadores encontraram resultado semelhante ou não e com interpretações diferentes. Para REYNOLDS e colaboradores⁸⁶, a obstrução biliar provoca translocação bacteriana, mas sem alterações histológicas no íleo terminal. Já CLEMENTS e colaboradores²⁷ acreditam que o achatamento das vilosidades, alargamento das placas de Payer e aumento do número de figuras mitóticas que encontraram no íleo terminal são apenas descritivas. O edema subepitelial, porém, é considerado como lesão mucosa do íleo terminal com papel fundamental na obstrução biliar e, associado a aumento da flora intestinal, promove translocação bacteriana³⁸. Ratos com desvio da bile para o interior da bexiga urinária apresentam alteração da mucosa do íleo terminal, levando à conclusão de que a ausência da bile na luz intestinal e não a obstrução biliar, promove translocação bacteriana¹⁰².

5.4 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE UFC/G DE TECIDO

Para a translocação de bactérias, WELLS e colaboradores¹¹⁸ propuseram que as bactérias são fagocitadas por macrófagos da submucosa, que as transportam para fora da luz intestinal e as liberam vivas no linfonodo mesentérico. Esse mecanismo ocorre com a mucosa intestinal anatomicamente íntegra³. A bile, ao ser impedida de atingir a luz intestinal, cria uma condição de facilidade para a invasão dos enterócitos por bactérias, pela perda da sua propriedade protetora às células intestinais³.

No presente estudo, a incidência de translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico nos tempos avaliados não apresentou diferença significativa entre ratos ictericos e controles, após a injeção do inóculo de *Escherichia coli* 10^9 UFC/ml no íleo terminal. RÖHRIG e colaboradores⁸⁹ também haviam testado essa concentração em ratos com 21 dias de obstrução biliar e os resultados foram semelhantes. O trajeto linfático de translocação não mostrou capacidade na destruição das bactérias, para essa concentração injetada no íleo terminal.

A microflora estritamente anaeróbica tem a função de controlar a colonização intestinal e a translocação de espécies potencialmente patogênicas tais como *Escherichia coli* e outras como Enterobacteriaceae, *Pseudomonas sp* e *Enterococcus sp*¹¹⁰. A microflora intestinal possui acima de 500 espécies de bactérias, com predomínio das anaeróbicas¹¹⁸. As bactérias anaeróbicas praticamente não são encontradas nos cultivos de tecidos na investigação de translocação bacteriana^{37, 38, 102}. Uma hipótese é que estas bactérias, por estarem colonizadas no muco que recobre as vilosidades, não se aderem ao epitélio para que possa ocorrer translocação. Outra possibilidade é que haja resistência à fagocitose ou grande susceptibilidade das bactérias anaeróbicas após fagocitadas¹¹⁸. Experimentalmente, o uso de antibióticos que reduzem a flora anaeróbica promovem translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico^{37, 115}, que pode ser aumentada no caso de se associar imunossupressor¹⁵. Na obstrução biliar extra-hepática em murinos, há um desequilíbrio na microflora intestinal, com aumento e diversificação de bacilos entéricos gram-negativos no ceco^{38, 82}, mas sem alteração da flora do intestino delgado⁸². DEITCH e colaboradores³⁸ encontraram translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico em camundongos com obstrução biliar, somente com população de bacilos entéricos gram-negativos superior a 10^8 g/ceco. Apesar da população bacteriana ser maior no ceco, muitas evidências indicam que o escape de bactérias da luz intestinal ocorre no intestino delgado¹¹⁸. A inflamação sistêmica, provocada por doses crescentes de zymosan em ratos, mostrou que as bactérias mudam a rota de translocação proporcionalmente a agressão ao hospedeiro, ocorrendo 11500 vezes mais bactérias na veia porta do que via linfática após aumento da dose de zymosan intraperitoneal. Deduz-se, portanto, que a rota da translocação das bactérias depende da magnitude do insulto inflamatório⁷³.

Neste trabalho as endotoxinas portal ou sistêmica não foram dosadas, mas são referidas por vários autores por estarem aumentadas na vigência de icterícia obstrutiva^{49, 108},

sendo postuladas duas hipóteses para esse evento. Na primeira, a ausência de sais biliares no interior do trato digestório resulta em alteração da microflora intestinal e conseqüente aumento de bactérias gram-negativas e de seus produtos, entre eles as endotoxinas. A perda do efeito emulsificante antiendotoxinas da bile incorre em aumento na quantidade de endotoxinas no intestino grosso e passagem em maior quantidade para o sistema porta^{8, 66}. Em outra hipótese, as endotoxinas não fagocitadas pela ineficiência das células de Kupffer passam para a circulação sistêmica com seus conseqüentes efeitos deletérios^{49, 87}. Outro fator relacionado a alteração nos níveis plasmáticos de endotoxinas é a imunoglobulina A secretória, especialmente em ratos, onde aparece quase exclusivamente na bile⁵². Quando ausente, essa imunoglobulina diminui o efeito antiendotoxina na luz intestinal. A própria endotoxemia, por aumentar a permeabilidade intestinal, leva a um círculo vicioso. As endotoxinas atuam na ativação de agentes da resposta inflamatória sistêmica, ao liberar mediadores presentes nas células endoteliais, neutrófilos e, principalmente, macrófagos. Os mediadores são produtos tóxicos do oxigênio, serotonina, histamina, fibronectina e citocinas, como leucotrienos, interleucinas, eicosonóides e fator de necrose tumoral^{1, 12, 61}. Os efeitos da endotoxemia se relacionam a insuficiência renal^{8, 19, 113}, sepse^{7, 16}, defeitos da cicatrização^{11, 58}, distúrbios de coagulação⁸¹ e falência de múltiplos órgãos²³.

A recuperação de bactérias, neste estudo, após 15 minutos de injeção do inóculo de *Escherichia coli*, resultou em aumento significativo na concentração de bactérias no pulmão e consistentemente maior no fígado dos ratos com icterícia em relação ao controles que obtiveram concentrações semelhantes nesses órgãos. Portanto, foram avaliadas as bactérias que não foram mortas pelo sistema reticuloendotelial (SRE). Esse resultado foi observado por outros pesquisadores^{10, 47, 63, 77, 89, 99} ao avaliarem a função do SRE nesse período de tempo. A interpretação dos resultados deve levar em conta que na avaliação do índice de fagocitose, como descreveu RÖHRIG⁸⁹, os resultados são opostos, pois quantificam o que foi captado pelos macrófagos. A observação de um único tempo demonstra o comportamento da atividade das células do SRE restrita ao momento escolhido e não possibilita avaliação dinâmica na remoção de bactérias da corrente sanguínea⁹³. As células de Kupffer, que na obstrução biliar encontram-se com hiperplasia e hipertrofia^{55, 87, 89}, ao perderem sua capacidade de reter as bactérias, permitem que ocorra aumento na concentração pulmonar^{10, 47, 63, 89, 99}. O comportamento após 30 minutos da injeção do inóculo de *Escherichia coli* mostrou diferença significativa nas concentrações médias de UFC/g de fígado entre os dois grupos. Esse

comportamento expressa retardo na eliminação de bactérias do fígado icterico, o que comprova disfunção do sistema reticuloendotelial na obstrução biliar prolongada em ratos. A concentração média de UFC/g no pulmão diminuiu significativamente entre 15 e 30 minutos nos animais ictericos e nos controles, o que demonstra eficácia na eliminação de bactérias por esse órgão. O pulmão elimina as bactérias por competência dos macrófagos⁶³ ou pela atuação eficaz de leucócitos polimorfonucleares^{68, 93}, apesar de terem sido descritos resultados contrários realizados *in vitro*⁹¹. A inversão das concentrações médias de UFC/g no fígado e pulmão dos ratos com obstrução biliar, aos 30 minutos, também foi observada por BALL e colaboradores¹⁰. Ao considerarmos as UFC/órgão, em todos os tempos examinados, os animais anictéricos apresentaram um número total de bactérias menor em relação aos ictericos. Esse fato se relaciona com a barreira mucosa intestinal íntegra nos controles, à eficácia do SRE ou ambas.

A função fagocitária pode estar afetada em uma ou mais etapas que ocorrem neste mecanismo. A quimiotaxia parece não estar afetada na icterícia obstrutiva, enquanto a capacidade de fagocitose de polimorfonucleares e macrófagos pulmonares está diminuída⁹¹. As alterações encontradas nos valores do fator de necrose tumoral e de interleucina 6^{12, 108}, bem como superóxido^{85, 92} e óxido nítrico⁸⁵, demonstram um defeito na ativação dos macrófagos na obstrução biliar, comprovando diminuição na atividade do SRE. A fisiopatologia exata dos mecanismos que ocorreram para disfunção do SRE na obstrução biliar não pode ser esclarecida pelos resultados encontrados no presente estudo. Contudo, entre os potenciais fatores envolvidos, incluem-se o aumento da pressão intraductal²², a diminuição das opsoninas séricas¹, a supressão da atividade das células de Kupffer^{26,76} ou a diminuição do fluxo sanguíneo hepático⁹⁴. Outros elementos da atividade imunitária podem estar envolvidos na obstrução biliar, como a disfunção dos linfócitos T, observado experimentalmente em coelhos¹¹ e ratos¹⁰⁷ e avaliados através do teste de estímulo mitogênico. A eliminação induzida de células T por injeção intraperitoneal de anticorpo monoclonal em ratos provoca diminuição de CD⁺4 e CD⁺8 e aumento da translocação de bactérias⁵⁴. A disfunção da imunidade celular, *in vivo*, testada na icterícia prolongada, resulta em aumento no tempo e diminuição da área de rejeição de enxerto de pele em ratos⁶⁴.

O resultado, após 90 minutos de inoculação de bactérias no íleo terminal, mostrou aumento nas concentrações médias de UFC/g nos tecidos dos ratos do grupo I, mas significativo apenas em relação ao pulmão do grupo II. A manutenção da bacteremia associada

à diminuição da função do SRE, fagocitose defeituosa e a proliferação das bactérias na corrente sanguínea ou seqüestradas em outros órgãos, seriam os fatores responsáveis pelo aumento das concentrações teciduais nos períodos mais tardios⁹⁹. Ao se utilizar a luz intestinal para injetar as bactérias, que encontram ambiente favorável à reprodução, essa via também pode contribuir para a manutenção da bacteremia.

A injeção de solução salina isotônica no lume do íleo terminal dos ratos do grupo III não promoveu a translocação de bactérias cultiváveis nos meios seletivos que foram utilizados neste estudo. As alterações anatômicas e funcionais da mucosa do íleo, encontradas na obstrução biliar prolongada, não foram suficientes para permitir que bactérias semelhantes aquelas do inóculo-teste fossem recuperadas nos tecidos relacionados com o sistema reticuloendotelial. Esse comportamento permite concluir que o método é discriminante e adequado. Esse resultado, porém, não exclui a existência de translocação espontânea de bactérias para os vários órgãos, tão bem acusados na literatura^{20, 27, 38, 82, 102, 108}. Existe, entretanto, relato que indica diminuição da ocorrência de translocação bacteriana na obstrução biliar prolongada quando comparados às fases mais precoces de colestase⁴⁷.

5.5 CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE UFC/ÓRGÃO

O aumento significativo do peso dos órgãos em relação ao peso dos ratos no grupo II, com 21 dias de obstrução biliar, levou a concentrações de UFC/órgão significantes no fígado e no baço como um todo, tendo como única exceção o pulmão nos animais sacrificados aos 15 minutos. O aumento significativo da concentração média das UFC/órgão na icterícia reforça todos os conceitos verificados anteriormente, com disfunção das defesas do hospedeiro pela diminuição da atividade do SRE.

Outros autores também encontraram aumento significativo no peso dos órgãos dos ratos após 21 dias de obstrução biliar^{47, 63}.

5.6 HEMOCULTURAS

Não houve correlação entre hemoculturas positivas da veia cava inferior e a recuperação das bactérias nos órgãos e tecidos nos grupos I e II. As culturas do sangue da veia porta foram prejudicadas pela dificuldade técnica em coletar o sangue em 4 ocasiões,

pela presença de aderências na região, impossibilitando a exposição do vaso para punção ou pela ausência de retorno sanguíneo à aspiração.

6 CONCLUSÕES

A análise dos dados experimentais permitiu as seguintes conclusões:

1. A inoculação de 2 ml de suspensão de *Escherichia coli* na concentração de 10^9 unidades formadoras de colônias/ml (UFC/ml), na luz do íleo terminal, promoveu translocação do inóculo.
2. O pulmão, na concentração média de UFC/g de tecido, foi eficaz na eliminação de bactérias, tanto nos ratos com obstrução biliar quanto nos controles, 30 minutos após a inoculação de 2 ml de suspensão de *Escherichia coli* na luz do íleo terminal.
3. O fígado, na concentração média de UFC/g de tecido, foi ineficaz na eliminação de bactérias em relação ao controle, 30 minutos após a inoculação de 2 ml de suspensão de *Escherichia coli* na luz do íleo terminal, mostrando incapacidade funcional do sistema reticuloendotelial.
4. O pulmão, como órgão, também removeu de maneira eficaz as bactérias, 30 minutos após a injeção destas no íleo terminal.
5. O fígado, como órgão, mostrou ineficiência para remover bactérias em 15 e 30 minutos após receber o inóculo de *Escherichia coli* na luz do íleo terminal, mostrando incapacidade funcional do sistema reticuloendotelial.

ANEXOS

Tabela A01. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I								
II	252,12	312,23	344,00	265,67				
III	289,71	320,86	276,84					

Tabela A02. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I								
II	290,00	370,00	334,48	293,42	276,50	287,91	372,06	254,78
III	342,00	224,00	370,67	331,58				

Tabela A03. Peso dos animais em gramas na 1ª operação sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I								
II	224,00	298,00	330,05	323,83	325,24	229,75	326,22	328,95
III	330,00	291,00	352,00	218,00				

Tabela A04. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	305,87	213,10	339,74	331,90				
II	261,98	315,39	350,75	208,00				
III	290,55	311,10	280,47					

Tabela A05. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	202,42	213,10	313,12	330,90	280,00			
II	315,20	285,92	317,34	391,03	236,72	288,26	386,50	267,84
III	346,00	224,25	374,54	325,84				

Tabela A06. Peso dos animais em gramas na 2ª operação sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	315,84	312,67	249,02	308,06	281,00			
II	227,00	319,75	364,44	325,26	340,86	227,56	340,25	342,41
III	331,00	299,30	254,12	218,99				

Tabela A07. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,28	0,27	0,54	0,31				
II	0,13	0,21	0,18	0,22				
III	0,13	0,16	0,25					

Tabela A08. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,28	0,40	0,30	0,38	0,25			
II	0,21	0,21	0,12	0,17	0,06	0,19	0,30	0,08
III	0,61	0,29	0,15	0,21				

Tabela A09. Peso do linfonodo mesentérico em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,31	0,30	0,22	0,29	0,30			
II	0,21	0,15	0,29	0,19	0,17	0,19	0,32	0,12
III	0,70	0,59	0,50	0,44				

Tabela A10. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	1,34	0,80	1,03	1,30				
II	1,12	1,20	1,36	1,34				
III	1,17	0,97	1,08					

Tabela A11. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,80	0,77	1,32	1,24	1,10			
II	1,22	1,01	1,30	1,23	1,11	1,17	1,43	1,08
III	1,17	1,03	1,39	1,20				

Tabela A12. Peso do rim esquerdo em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	1,10	1,16	0,88	1,15	0,87			
II	1,17	1,04	0,75	0,45	1,33	0,95	1,15	1,38
III	1,22	1,33	1,33	1,32				

Tabela A13. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,45	0,51	0,54	0,75				
II	0,85	1,29	1,95	0,71				
III	1,24	1,10	1,47					

Tabela A14. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,28	0,38	1,23	0,69	0,58			
II	1,31	1,07	1,25	1,43	2,01	1,42	0,66	1,06
III	0,70	0,94	1,29	1,09				

Tabela A15. Peso do baço em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,50	0,30	0,56	0,32	0,58			
II	1,88	1,94	1,31	0,98	1,78	0,86	1,22	0,96
III	1,65	1,77	1,82	1,38				

Tabela A16. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,17	0,20	0,22	0,27				
II	0,42	0,29	0,26	0,39				
III	0,22	0,26	0,33					

Tabela A17. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,12	0,14	0,35	0,28	0,25			
II	0,17	0,15	0,25	0,26	0,33	0,36	0,26	0,40
III	0,20	0,09	0,39	0,22				

Tabela A18. Peso do fragmento de baço em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,22	0,16	0,17	0,15	0,12			
II	0,24	0,46	0,37	0,24	0,44	0,30	0,43	0,44
III	0,29	0,43	0,41	0,47				

Tabela A19. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	11,31	9,39	11,91	13,00				
II	17,71	21,53	25,01	11,64				
III	16,94	18,22	19,69					

Tabela A20. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	6,55	7,05	13,93	13,35	11,19			
II	23,40	24,55	24,49	23,78	19,20	21,01	13,62	21,40
III	18,10	14,79	25,62	16,34				

Tabela A21. Peso do fígado em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	11,64	11,29	11,65	11,11	12,78			
II	22,00	20,38	24,86	20,88	24,08	18,55	20,18	23,45
III	19,62	22,00	24,60	13,40				

Tabela A22. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,51	0,62	0,64	0,39				
II	0,31	0,26	0,43	0,47				
III	0,31	0,22	0,46					

Tabela A23. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,48	0,74	0,40	0,41	0,57			
II	0,15	0,15	0,27	0,26	0,19	0,41	0,41	0,87
III	0,80	0,09	0,57	0,54				

Tabela A24. Peso do fragmento de fígado em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,52	0,33	0,73	0,41	0,39			
II	0,20	0,64	0,42	0,28	0,41	0,56	0,60	1,27
III	0,41	0,51	0,42	0,51				

Tabela A25. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,86	0,80	1,36	1,11				
II	0,81	1,06	1,11	0,88				
III	1,49	1,16	1,03					

Tabela A26. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,70	1,06	0,97	1,08	0,86			
II	1,17	1,29	1,06	1,23	1,69	1,18	1,39	1,31
III	1,40	0,91	0,80	1,02				

Tabela A27. Peso do pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,93	0,81	0,74	0,80	0,83			
II	2,05	1,70	0,73	1,30	2,33	1,12	1,26	1,26
III	0,99	0,91	0,89	0,86				

Tabela A28. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 15 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,32	0,34	0,34	0,45				
II	0,19	0,18	0,22	0,40				
III	0,28	0,22	0,22					

Tabela A29. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 30 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,29	0,15	0,34	0,31	0,18			
II	0,20	0,19	0,27	0,22	0,39	0,45	0,56	0,31
III	0,23	0,04	0,22	0,19				

Tabela A30. Peso do fragmento de pulmão direito em gramas nos ratos sacrificados em 90 minutos

Grupo / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
I	0,35	0,11	0,15	0,21	0,34			
II	0,40	0,42	0,34	0,28	0,42	0,47	0,42	0,25
III	0,41	0,50	0,30	0,30				

Tabela A31. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo I

Órgão / Tempo de Sacrificio	15 minutos	30 minutos	90 minutos
Linfonodo mesentérico	4 / 4 (100 %)	4 / 5 (80 %)	4 / 5 (80 %)
Fígado	3 / 4 (75 %)	0 / 5 (0 %)	3 / 5 (60 %)
Baço	3 / 4 (75 %)	2 / 5 (40 %)	3 / 5 (60 %)
Pulmão	3 / 4 (75 %)	0 / 5 (0 %)	2 / 5 (40 %)

Tabela A32. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo II

Órgão / Tempo de Sacrificio	15 minutos	30 minutos	90 minutos
Linfonodo mesentérico	4 / 4 (100 %)	7 / 8 (87,5 %)	8 / 8 (100 %)
Fígado	4 / 4 (100 %)	6 / 8 (75 %)	7 / 8 (87,5 %)
Baço	3 / 4 (75 %)	3 / 8 (37,5 %)	4 / 8 (50 %)
Pulmão	4 / 4 (100 %)	0 / 8 (0 %)	2 / 8 (25 %)

Tabela A33. Número (Percentual) de translocação para os órgãos no Grupo III

Órgão / Tempo de Sacrificio	15 minutos	30 minutos	90 minutos
Linfonodo mesentérico	0 / 3 (0 %)	0 / 4 (0 %)	0 / 4 (0 %)
Fígado	0 / 3 (0 %)	0 / 4 (0 %)	0 / 4 (0 %)
Baço	0 / 3 (0 %)	0 / 4 (0 %)	0 / 4 (0 %)
Pulmão	0 / 3 (0 %)	0 / 4 (0 %)	0 / 4 (0 %)

Tabela A34. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 15 minutos

Diluição / Rato	R1 A/B	R2 A/B	R3 A/B	R4 A/B	R5 A/B	R6 A/B	R7 A/B	R8 A/B
1:3	33 24	02 02	09 03	00 00				
10 ⁻¹	27 15	00 00	02 00	00 00				
10 ⁻²	02 01	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00				

Tabela A35. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 30 minutos

Diluição / Rato	R1 A/B	R2 A/B	R3 A/B	R4 A/B	R5 A/B	R6 A/B	R7 A/B	R8 A/B
1:3	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00			
10 ⁻¹	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00			
10 ⁻²	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00			
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00			

Tabela A36. Número de UFC / placa do fígado no Grupo I com sacrifício em 90 minutos

Diluição / Rato	R1 A/B	R2 A/B	R3 A/B	R4 A/B	R5 A/B	R6 A/B	R7 A/B	R8 A/B
1:3	i i	08 07	00 00	12 12	00 00			
10 ⁻¹	i i	06 01	00 00	05 06	00 00			
10 ⁻²	98 03	00 00	00 00	00 00	00 00			
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00			

Tabela A37. Número de UFC / placa do fígado no Grupo II com sacrifício em 15 minutos

Diluição / Rato	R1 A/B	R2 A/B	R3 A/B	R4 A/B	R5 A/B	R6 A/B	R7 A/B	R8 A/B
1:3	02 01	i 90	04 02	i i				
10 ⁻¹	00 00	i i	01 01	i i				
10 ⁻²	00 00	i i	00 00	12 10				
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00				

Tabela A50. Número de UFC / placa do baço no Grupo III com sacrifício em 30 minutos

Diluição / Rato	R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8	
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻¹	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻²	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻³	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00

Tabela A51. Número de UFC / placa do baço no Grupo III com sacrifício em 90 minutos

Diluição / Rato	R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8	
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻¹	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻²	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
10 ⁻³	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00

Tabela A52. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo I com sacrifício em 15 minutos

Diluição / Rato	R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8	
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	i	i	i	i	32	44	10	10								
10 ⁻¹	38	22	19	16	02	07	00	00								
10 ⁻²	01	00	00	00	00	00	00	00								
10 ⁻³	00	00	00	00	00	00	00	00								

Tabela A53. Número de UFC / placa do linfonodo mesentérico no Grupo I com sacrifício em 30 minutos

Diluição / Rato	R1		R2		R3		R4		R5		R6		R7		R8	
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	13	12	08	06	14	08	57	54	00	00						
10 ⁻¹	09	i	01	00	11	08	15	12	00	00						
10 ⁻²	00	00	00	00	01	00	00	00	00	00						
10 ⁻³	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00						

Tabela A66. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo II com sacrifício em 90 minutos

Diluição / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	01 00	00 00	00 00	01 01	00 00	00 00	00 00	00 00
10 ⁻¹	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00
10 ⁻²	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00	00 00

Tabela A67. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrifício em 15 minutos

Diluição / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	00 00	00 00	00 00					
10 ⁻¹	00 00	00 00	00 00					
10 ⁻²	00 00	00 00	00 00					
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00					

Tabela A68. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrifício em 30 minutos

Diluição / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻¹	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻²	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00				

Tabela A69. Número de UFC / placa do pulmão no Grupo III com sacrifício em 90 minutos

Diluição / Rato	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B	A/B
1:3	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻¹	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻²	00 00	00 00	00 00	00 00				
10 ⁻³	00 00	00 00	00 00	00 00				

Tabela A70. Ágar Mac Conkey, meio de cultura seletivo para bacilos Gram-negativos facultativos

Composição típica	g/litro
Peptona de gelatina	17,0
Peptona de carne	1,5
Peptona de caseína	1,5
Cloreto de sódio	5,0
Lactose	10,0
Mistura de sais biliares	1,5
Vermelho neutro	0,03
Cristal violeta	0,001
Ágar	13,5
pH final	7,1± 0,2 a 25° C

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Cytokines In: _____. **Chapter twelve of Cellular and molecular immunology**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1994. p.240-260.
2. ALEXANDER, J.W. Nutrition and translocation. **JPEN J. Parent. Enteral Nutr.**, Silver Spring, v.14, n.5S, p.170S-174S, Sept.-Oct. 1990.
3. ALEXANDER, J.W.; BOYCE, S.T.; BABCOCK, G.F. et al. The process of microbial translocation. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.212, n.4, p.496-512, Dec. 1990.
4. ALEXANDER, J.W.; GIANOTTI, L.; PYLES, T.B. et al. Distribution and survival of *Escherichia coli* translocating from the intestine after thermal injury. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.213, n.6, p.558-567, June 1991.
5. ALVERDY, J.C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. **JPEN J. Parent. Enteral Nutr.**, Silver Spring, v.14, n.4 suppl., p.109S-113S, July-Aug. 1990.
6. 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. 1988.
7. ARMSTRONG, C.P.; DIXON, J.M.; TAYLOR, T.V. et al. Surgical experience of deeply jaundiced patients with bile duct obstruction. **Br. J. Surg.**, London, v.71, n.3, p.234-238, Mar. 1984.
8. BAILEY, M.E. Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v.63, p.774-778, 1976.
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. BALL, S.K.; GROGAN, J.B.; COLLIER, B.J. et al. Bacterial phagocytosis in obstructive jaundice: a microbiologic and electron microscopic analysis. **Am. Surg.**, Atlanta, v.57, n.2, p.67-72, Feb. 1991.
11. BAYER, I.; ELLIS, H. Jaundice and wound healing: an experimental study. **Br. J. Surg.**, London, v.63, n.5, p.392-396, 1976.
12. BEMELEMANS, M.H.A.; GREVE, J.W.; GOUMA, D.T.; BUURMANN, W.A. Cytokines, tumour necrosis factor and interleukin-6, in experimental biliary obstruction in mice. **Hepatology**, Philadelphia, v.15, n.6, p.1132-1136, 1992.
13. BERG, R.D. Mechanisms confining indigenous bacteria to the gastrointestinal tract. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.33, n.11 suppl., p.2472-2484, 1980.

14. BERG, R.D.; GARLINGTON, A.W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. **Infec. Immun.**, Washington, v.23, n.2, p.403-411, Feb. 1979.
15. BERG, R.D.; WOMMACK, E.; DEITCH, E.A. Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation. **Arch. Surg.**, v.123, p.1359-1364, Nov. 1988.
16. BLAMEY, S.L.; FEARSON, K.C.H.; GILMOUR, W.H. et al. Prediction of risk in biliary surgery. **Br. J. Surg.** v.70, p.535, 1983.
17. BORDER, J.R.; HASSETT, J.; LADUCA, J. et al. The gut-origin septic states in blunt trauma (ISS=40) in the ICU. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.206, n.4, p.427-448, Oct. 1987.
18. BROOKS, S.G.; MAY, J.; SEDMAN, P. et al. Translocation of enteric bacteria in humans. **Br. J. Surg.**, Guildford, v.80, n.7, p.901-902, 1993.
19. CAHILL, C.J.; PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.165, p.519-522, Dec. 1987.
20. CAKMAKCI, M.; TIRNAKSIZ, B.; HAYRAN, M. et al. Effects of obstructive jaundice and external biliary diversion on bacterial translocation in rats. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v.162, n.7, p.567-571, 1996.
21. 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.
22. CARDOSO, V.; PIMENTA, A.; CORREIA DE FONSECA, J. et al. The effect of cholestasis on hepatic clearance of bacteria. **World J. Surg.**, v.6, p.330, 1982.
23. CARRICO, C.J.; MEAKINS, J.L.; MARSHALL, J.C. et al. Multiple-organ-failure syndrome. **Arch. Surg.**, Chicago, v.121, n.2, p.196-208, Feb. 1986.
24. CASTAING, D.; HOUSSIN, D.; BISMUTH, H. **Hepatic and portal surgery in the rat.** New York: Masson, 1980, 174p.
25. 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.5, p.580-586, Sept.-Oct. 1993.
26. CLEMENTS, W.D.B.; HALLIDAY, M.I.; McCAIGUE, M.D. et al. Effects of extrahepatic obstructive jaundice on Kupffer cell clearance capacity. **Arch. Surg.**, Chicago, v.128, n.2, p.200-205, Feb. 1993.

27. CLEMENTS, W.D.B.; PARKS, R.W.; ERWIN, P. et al. Role of the gut in the pathophysiology of extrahepatic biliary obstruction. **Gut**, London, v.39, n.4, p.587-593, 1996.
28. COLLINS, C.H.; LYNE, P.M.; GRANGE, J.M. **Microbiological methods**. Seventh edition. London, 1995.
29. COSTA NETO, P.L.O. **Estatística**. São Paulo: Edgar Blucher, 1977.
30. 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, n.3, p.403-404, Mar. 1990.
31. _____. Multiple organ failure: pathophysiology and potential future therapy. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.216, n.2, p.117-134, Aug. 1992.
32. DEITCH, E.A.; BERG, R.D.. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation of the gut flora in burned mice. **J. Trauma**, Baltimore, v.27, n.2, p.161-166, Feb. 1987.
33. DEITCH, E.A.; BERG, R.D.; SPECIAN, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. **Arch. Surg.**, Chicago, v.122, n.2, p.185-190, Feb. 1987.
34. DEITCH, E.A.; BRIDGES, W.M.; MA, J.W. et al. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. **Am. J. Surg.**, Newton, v.159, n.4, p.394-401, Apr. 1990.
35. 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, n.1, p.36-42, July 1989.
36. DEITCH, E.A.; MA, W.J.; MA, L. et al. Endotoxin-induced bacterial translocation: a study of mechanisms. **Surgery**, St. Louis, v.106, n.2, p.292-300, 1989.
37. DEITCH, E.A.; MAEJIMA, K.; BERG, R. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the GI tract microflora in burned rats. **J. Trauma**, Baltimore, v.25, n.5, p.385-392, May 1985.
38. DEITCH, E.A.; SITTIG, K.; LI, M. et al. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. **Am. J. Surg.**, Newton, v.159, n.1, p.79-84, Jan. 1990.
39. DEITCH, E.A.; SPECIAN, R.D.; BERG, R.D. Endotoxin-induced bacterial translocation and mucosal permeability: role of xanthine oxidase, complement activation and macrophage products, **Crit. Care Med.**, Baltimore, v.19, n.6, p.785-791, June 1991.
40. 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, n.9, p.1019-1024, Dec. 1987.

41. 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, n.1, p.97-101, Jan. 1986.
42. DEITCH, E.A.; XU, D.; QI, L.; BERG, R.D. Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity. *Surgery*, St. Louis, v.109, n.3 Pt. 1, p.269-276, 1991.
43. DIAMOND, T.; DOLAN, S.; THOMPSON, R.L.E. ROWLANDS, B.J. Development and reversal of endotoxemia and endotoxin-related death in obstructive jaundice. *Surgery*, St. Louis, v.108, p.307-375, 1990.
44. DIFCO Laboratórios. **Manual de microbiologia**. 9. ed. Madri, 1978.
45. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; SOLTESZ, V. et al. The effect of biliary decompression on bacterial translocation in jaundice rats. *HPB Surg.*, v.7, p.99-110, 1993.
46. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; SOLTESZ, V. et al. Inhibition of bacterial translocation in obstructive jaundice by muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine in the rat. *J. Hepatol.*, Copenhagen, v.20, n.6, p.720-728, 1994.
47. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; SOLTESZ, V. et al. Obstructive jaundice impairs reticuloendothelial function and promotes bacterial translocation in rats. *J. Surg. Res.*, San Diego, v.57, n.2, p.238-245, Aug. 1994.
48. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; SOLTESZ, V. et al. The role of bile and bile acids in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. *Eur. Surg. Res.*, Basel, v.25, n.1, p.11-19, 1993.
49. DRIVAS, G.; JAMES, O.; WARDLE, N. Study of reticuloendothelial phagocytic capacity in patients with cholestasis. *Br. Med. J.*, London, v.1, p.1568-1569, 1976.
50. DUNN, D.L. Gram-negative bacterial sepsis and sepsis syndrome. *Surg. Clin. North Am.*, Philadelphia, v.74, n.3, p.621-635, June 1994.
51. FINE, J. Current status of the problem of traumatic shock. *Surg. Gynecol. Obstet.*, v.120, p.537-544, 1965.
52. FUBARA, E.S.; FRETER, R. Protection against enteric bacterial infection by secretory IgA antibodies. *J. Immunol.*, Baltimore, v.111, n.2, p.395-403, 1971.
53. GARRISON, R.N.; FRY, D.E.; BERBERICH, S.; POLK JR, H.C. Enterococcal bacteremia: clinical implications and determinants of death. *Ann. Surg.*, Philadelphia, v.196, n.1, p.43-47, 1982.
54. GAUTREAUX, M.D.; DEITCH, E.A.; BERG, R.D. T-Lymphocytes in host defense against bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Infect. Immun.*, Washington DC, v.62, n.7, p.2874-84, 1994.

55. GLASMEYER, R.C. **Efeito da esplenectomia na mucosa do íleo terminal, na icterícia obstrutiva em ratos.** Curitiba, 1998. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica). Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
56. GORIS, R.J.A.; BOEKHORST, T.P.A.; NUYTINCK, J.K.S.; GIMBRERE, J.S.F. Multiple organ failure: generalized autodestructive inflammation. **Arch. Surg.**, Chicago, v.120, n.10, p.1109-1115, Oct. 1985.
57. GOUMA, D.J.; COELHO, J.C.U.; FISCHER, J.D., et al. Endotoxemia after relief of biliary obstruction by internal and external drainage in rats. **Am. J. Surg.**, Bellemead, v.51, n.4, p.476-479, 1986.
58. GRANDE, L.; GARCIA-VALDECASAS, J.C.; FUSTER, J. et al. Obstructive jaundice and wound healing. **Br. J. Surg.**, v.77, n.4, p.440-442, Apr. 1990.
59. HOLMAN, J.M.; RIKERS, L.F. Biliary obstruction and host defense failure. **J. Surg. Res.**, New York, v.32, p.208-213, 1982.
60. HOLMAN JR, J.M.; RIKKERS, L.F.; MOODY, F.G. Sepsis in the menagement of complicated biliary disorders. **Am. J. Surg.**, Bellemead, v.138, n.6, p.809-813, Dec. 1979.
61. JARDIM, R.F.; ANDRADE, M.E.B.; AUN, W.T. et al. Citocinas. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.**, São Paulo, v.87, n.17, p.86-98, 1994.
62. KALINA, T.V. Ultrastructure of the intestinal lymphatics in regard to absorption. **Scand. J. Gastroenterol.**, Oslo, v.8, p.193-196, 1973.
63. KATZ, S.; YANG R.; RODEFELD, M.J. et al. Impaired hepatic bacterial clearance is reversed by surgical relief of obstructive jaundice. **J. Pediatr. Surg.**, New York, v.26, n.4, p.401-405, 1991.
64. KEANE, R.M.; COLLINS, P.B.; JOHNSON, A.H.; HAYES, D.B. Delayed homograft rejection following common bile duct ligation: in vivo evidence that obstructive jaundice is immunosuppressive. **Irish J. Med. Sci.** Dublin, v.155, n.5, p.143-146, 1986.
65. KIMMINGS, A.N.; VAN DEVENTER, S.J.H.; OBERTOP, H. et al. Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: pathogenesis and treatment. **J. Am. Col. Surg.**, v.181, p.567-581, Dec. 1995.
66. KÓCSAR, L.T.; BERTÓK, L.; VÁRTERÉSZ, V. Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats. **J. Bacteriol.**, v.100, p.220, 1969.
67. LAI, E.C.S.; CHU, K.M.; LO, C.Y. et al. Surgery for malignant obstructive jaundice: analysis of mortality. **Surgery**, St. Louis, v.112, p.891-896, 1992.

68. LANSER, M. E.; SABA, T.M. Neutrophil-mediated lung localization of bacteria: a mechanism for pulmonary injury. **Surgery**, St. Louis, v.90, p.473-481, 1981.
69. LEE, E. The effect of obstructive jaundice on the migration of reticulo-endothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. **Br. J. Surg.**, v.59, n.2, p.875-877, 1972.
70. LEVIN, J. **Estatística aplicada a ciências humanas**. 2. ed. São Paulo: Harbra, 1987.
71. 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.
72. MAEJIMA, K.; DEITCH, E.A.; BERG, R. Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tract of mice. **Arch. Surg.**, Chicago, v.119, p.166-172, Feb. 1984.
73. MAINOUS, M.R.; TSO, P.; BERG, R. et al. Studies of the route, magnitude and time course of bacterial translocation in a model of systemic inflammation. **Arch. Surg.**, Chicago, v.126, p.33-37, Jan. 1991.
74. MARSHALL, J.C.; CHRISTOU, N.V.; HORN, R. et al. The microbiology of multiple organ failure: the proximal gastrointestinal tract as an occult reservoir of pathogens. **Arch. Surg.**, Chicago, v.123, p.309-315, Mar. 1988.
75. MARSHALL, J.C.; CHRISTOU, N.V.; MEAKINS, J.L. The gastrointestinal tract: the "undrained abscess" of multiple organ failure. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.218, n.2, p.110-119, Aug. 1993.
76. MARSHALL, J.C.; LEE, C.; MEAKINS, J.L. et al. Kupffer cell modulation of the systemic immune response. **Arch. Surg.**, Chicago, v.122, p.191-196, Feb. 1987.
77. MEGISON, S.M.; DUNN, C.W.; HORTON, J.W.; CHAO, H. Effects of relief of biliary obstruction on mononuclear phagocyte system function and cell mediated immunity. **Br. J. Surg.**, v.78, p.568-571, May. 1991.
78. MONTGOMERY, A.; ALMQVIST, P.; ARVIDSSON, D. et al. Early detection of gastrointestinal mucosa ischemia in porcine *E. coli* sepsis. **Acta Chir. Scand.**, v.156, p.613-620, 1990.
79. NIEUWENHUIJZEN, G.A.P.; DEITCH, E.A.; GORIS, J.A. Infection, the gut and the development of the multiple organ dysfunction syndrome. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v.162, p.259-273, 1996.
80. PAIN, J.A. Reticulo-endothelial function in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, Guildford, v.74, n.12, p.1091-1094, Dec. 1987.

81. PAIN, J.A.; CAHILL, C.J.; BAILEY, M.E. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. **Br. J. Surg.**, Guildford, v.72, n.12, p.942-945, Dec. 1985.
82. PARKS, R.W.; CLEMENTS, W.D.B.; POPE, C. et al. Bacterial translocation and gut microflora in obstructive jaundice. **J. Anat.**, London, v.189, p.561-565, 1996.
83. PARKS, R.W.; CLEMENTS, W.D.B.; SMYE, M.G. et al. Intestinal barrier dysfunction in clinical and experimental obstructive jaundice and its reversal biliary drainage. **Br. J. Surg.**, London, v.83, p.1345-1349, 1996.
84. PELLEGRINI, C.A.; PIERGIORGIO, A.; BONGARD, F.S. et al. Risk of biliary surgery in patients with hyperbilirubinemia. **Am. J. Surg.**, v.154, p.111-117, July 1987.
85. REYNOLDS, J.V.; MURCHAN, P.; REDMOND, H.P. et al. Failure of macrophage activation in experimental obstructive jaundice: association with bacterial translocation. **Br. J. Surg.**, London, v.82, p.534-538, 1995.
86. REYNOLDS, J.V.; MURCHAN, P.; LEONARD, M. et al. Gut barrier failure in experimental obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, San Diego, v.62, n.1, p.11-16, Apr. 1996.
87. ROCHA, S.L. **Colangite aguda por *Escherichia coli*. Estudo experimental em ratos com obstrução biliar.** Curitiba, 1991. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
88. ROGERS, A.L.; FARHA, G.J.; BEAMER, R.L.; CHANG, F.C. Incidence and associated mortality of retained common bile duct stones. **Am. J. Surg.**, Kansas v.150, p.690-693, 1985.
89. RÖHRIG, C.E. **Efeitos da glutamina no sistema monomorfonuclear de fagócitos na icterícia obstrutiva.** Curitiba, 1995. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
90. RÖHRIG, C.E.; SOUZA, H.A.P.M.; CANELLO, G. et al. Translocação de bactérias viáveis na icterícia obstrutiva em ratos tratados com dieta enriquecida por glutamina. **Arq. Bras. Cir. Digest.**, São Paulo, v.9 (supl.2), p.28, July 1994.
91. ROUGHNEEN, P.T.; DRATH, D.B.; KULKARNI, A.D.; ROWLANDS, B.J. Impaired nonspecific cellular immunity in experimental cholestasis. **Ann. Surg.**, v.206, p.578-582, 1987.
92. ROUGHNEEN, P.T.; KUMAR, S.C.; PELLIS, N.R.; ROWLANDS, B.J. Endotoxemia and cholestasis. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.167, p.205-210, 1988.
93. SABA, T.M. Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. **Arch. Intern. Med.**, v.126, p.1031-1052, 1970.

94. SAKODA, K.; ATIK, M. Influence of common duct bile ligation on hepatic blood flow. **Am. Surg.**, v.36, p.731-736, 1970.
95. SCHAEGLER, R.W.; DUBOS, R.; COSTELLO, R. The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. **J. Exp. Med.**, v.122, p.59-66, 1965.
96. SCHÖFFEL, U. Obstructive jaundice and bacterial translocation. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v.162, n.7, p.573-574, July 1996.
97. SCOTT-CONNER, C.E.; GROGAN, J.B. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. **J. Surg. Res.** v.57, p.316-36, 1994.
98. SCOTT-CONNER, C.E.; GROGAN, J.B.; SCHER, K.S. et al. Impaired bacterial killing in early obstructive jaundice. **Am. J. Surg.**, Bellemead, v.166, p.308-310, 1993.
99. SCOTT-CONNER, C.E.; GROGAN, J.B.; SCHER, K.S. et al. Impaired clearance of *Escherichia coli* bacteremia in early biliary obstruction. **Am. J. Surg.**, Newton, v.157, p.210-214, Feb. 1989.
100. SEDMAN, P.C.; MACFIE, J.; SAGAR, P. et al. The prevalence of gut translocation in humans. **Gastroenterology.**, Philadelphia, v.107, p.643-649, 1994.
101. SILVA JR, O. C. ; ZUCOLOTO, S.; BEER JR., A. **Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia.** São Paulo: Robe, 1998.
102. SLOCUM, M.M.; SITTIG, K.M.; SPECIAN, R.D., DEITCH, E.A.. Absence of intestinal bile promotes bacterial translocation. **Am. Surg.**, Atlanta, v.58, n.5, p.305-310, May 1992.
103. 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.
104. TAKEUCHI, A. Penetration of the intestinal epithelium by various microorganisms. **Curr. Top. Pathol.**, v.54, p.1-27, 1971.
105. TANAKA, N.; RYDEN, S.; BERGQVIST, L. et al. Reticulo-endothelial function in rats with obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v.72, n.12, p.946-949, Dec. 1985.
106. THOMPSON, R.L.E.; HOPER, T.; DIAMOND, T.; ROWLANDS, B.J. Development and reversibility of T lymphocyte dysfunction in experimental obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v.77, p.1229-1232, Nov. 1990.
107. TRABULSI, L.R. **Microbiologia.** 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1989.

108. 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. Tese (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
109. VAN DER WAAJ, D.D. Colonization resistance of the digestive tract mechanisms and clinical consequences. **Hahrung**, v.31, p.507-517, 1987.
110. VAN DER WAAJ, D.D.; BERGHUIS-DE VRIES, J.M.; LEKKERKERK-VAN DER WEES, J.E.C. Colonization resistance of the digestive tract and spread of bacteria to the lymphatic organs in mice. **J. Hyg. Cambridge**, v.70, p.342-355, 1971.
111. VAN LEEUWEN, P.A.M.; BOERMEESTER, M.A.; HOUDIJK, A.P.J., FERWERDA, CH.C.; CUESTA, M.A.; MEYER, S.; WESDORP, R.I.C. Clinical significance of translocation. **GUT**, London, suppl. 1: S28-S34, 1994.
112. VANE, D.W.; REDLICH, P.; WEBER, T. et al. Impaired immune function in obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, San Diego, v.45, n.3, p.287-293, Sept. 1988.
113. WAIT, R.B.; KAHNG, K.U. Renal failure complicating obstructive jaundice. **Am. J. Surg.**, v.157, p.256-263, Feb., 1989
114. WARSHAW, A.L.; WALKER, W.A.; CORNELL, R.C.; ISSELBACHER, K.J. Small intestinal permeability to macromolecules: transmission of horseradish peroxidase to mesenteric lymph and portal blood. **Lab. Invest.**, v.25, p.675-684, 1971.
115. WELLS, C.L. Relationship between intestinal microecology and the translocation of intestinal bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v.58, n.2, p.87-93, 1990.
116. WELLS, C.L.; JECHOREK, R.P.; GILLINGHAM, K.J. Relative contributions of host and microbial factors in bacterial translocation. **Arch Surg.**, v.126, p.247-52, 1991.
117. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R.L. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. **Arch. Surg.**, v.122, p.48-53, 1987.
118. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R.L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, Chicago, v.10, p.958-979, 1988.
119. WELSH, F.K.S.; RAMSDEN, C.W.; MACLENNAN, K. et al. Increased intestinal permeability and altered mucosal immunity in jaundice patients. **Br. J. Surg.**, v.83, p.679, 1996.
120. 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.