

CRISTIANE KIST

**PERMEABILIDADE DA MICROCIRCULAÇÃO E TRANSLOCAÇÃO
BACTERIANA EM VIGÊNCIA DE ASCITE INDUZIDA PELO
SARCOMA 180. ESTUDO EXPERIMENTAL**

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

Orientador :
Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

Coordenador :
Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

CURITIBA

1997

CRISTIANE KIST

**PERMEABILIDADE DA MICROCIRCULAÇÃO E TRANSLOCAÇÃO
BACTERIANA EM VIGÊNCIA DE ASCITE INDUZIDA PELO
SARCOMA 180. ESTUDO EXPERIMENTAL**

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

Orientador :
Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

Coordenador :
Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

CURITIBA

1997

CRISTIANE KIST

**PERMEABILIDADE DA MICROCIRCULAÇÃO E TRANSLOCAÇÃO
BACTERIANA EM VIGÊNCIA DE ASCITE INDUZIDA PELO
SARCOMA 180. ESTUDO EXPERIMENTAL**

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

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

Prof. Dr. Carlos Eduardo Domene
Universidade de São Paulo

Prof. Dr^a. Ana Cristina Bordon de Corvalán
Universidad Asuncion

Prof. Dr. João Carlos Simões
Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná

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

Prof. Dr. Fernando Hintz Greca
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 17 de abril de 1997

Orientador :

Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka

Ao meu pai **Arnaldo** e minha mãe **Teresinha**,
as palavras, não podem expressar a minha
gratidão.

"Solidão é, e sempre tem sido, a experiência central e inevitável de todo homem."

THOMAS WOLFE

AGRADECIMENTOS

Expresso estima e agradecimentos à todos aqueles que contribuíram com o seu tempo, energia, visão, suporte ou amizade, para que este estudo se tornasse possível.

Ao Prof. Dr. **JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA**, meu reconhecimento pela sábia e criteriosa orientação deste trabalho científico, por determinar que o mesmo poderia e deveria ser realizado, e então, mostrou-me o caminho.

Ao Prof. Dr. **OSVALDO MALAFAIA**, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, por acreditar que sempre há uma pesquisa para ser realizada, e que nunca será feita, se não concedida a oportunidade.

Ao Prof. Dr. **MIGUEL NOEL NASCENTES PENIDO BURNIER JÚNIOR**, Titular de Patologia, Oftalmologia, Clínica Médica e Chefe do Departamento de Oftalmologia da Universidade McGill de Montréal, pelas sábias palavras e incentivo à pesquisa, cedendo-me a oportunidade de partilhar valiosos conhecimentos.

À Prof. Dr^a. **ANA CRISTINA BORDON DE CORVALÁN**, pelo apoio sempre prestativo e maravilhosas contribuições.

Ao Dr. **NEMER HAJAR**, especial agradecimento pelo apoio contínuo em ambos: amizade e estímulo científico.

Ao Dr. **PAULO CÉSAR ANDRIGUETTO**, pelo incentivo e apoio.

Ao Estatístico **LUIZ GONZAGA CALEFFE**, Coordenador do Laboratório de Estatística da Universidade Federal do Paraná, pela precisa e gentil orientação nas avaliações estatísticas.

Aos Drs. **SÉRGIO RICARDO PENTEADO FILHO** e **PABLO FABIAN AVILES CABRERA**, pelas sugestões e imprescindíveis colaborações técnicas.

À acadêmica de Medicina, **SÔNIA CRISTINA TIME** (Pontifícia Universidade Católica do Paraná), meus sinceros agradecimentos pelo auxílio e responsabilidade na realização dos procedimentos cirúrgicos.

Ao técnico de laboratório **MAURÍCIO BECKER** (Laboratório de Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná), pelo preparo de materiais destinados aos experimentos bacteriológicos.

À Diretoria e ao Corpo Clínico do **HOSPITAL SANTA CRUZ**, pelo incentivo e apoio oferecidos.

Ao **INSTITUTO DE TECNOLOGIA DO PARANÁ (TECPAR)**, pelo fornecimento dos animais para o experimento.

Ao **INSTITUTO DE PESQUISAS MÉDICAS (IPEM)**, pelos equipamentos de informática fornecidos.

À **FACULDADE EVANGÉLICA DE MEDICINA DO PARANÁ**, por ceder as dependências de seus laboratórios de imunologia para a realização da parte experimental desta tese.

Ao **LABORATÓRIO ALFA**, pelas dosagens bioquímicas em soro e ascite, nas pessoas dos Bioquímicos **IVONNE JAQUELINE ROSSATI** e **CÉSAR GURNINSKI**.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVO.....	7
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	9
4 MATERIAL E MÉTODO.....	29
4.1 Delineamento Experimental.....	29
4.2 Amostra.....	29
4.2.1 Animais estudados.....	29
4.2.1.1 Organização e grupos de animais.....	29
4.2.2 Sacrifício e coleta de amostras.....	30
4.2.3 Linhagem tumoral estudada.....	30
4.3 Indução do processo tumoral.....	31
4.3.1 Preparo do inóculo tumoral.....	31
4.3.1.1 Contagem total de células tumorais.....	31
4.3.1.2 Contagem de células tumorais viáveis.....	31
4.3.1.3 Teste de Esterilidade Bacteriana e Fúngica.....	32
4.3.2 Inoculação da suspensão de células tumorais.....	32
4.4 Avaliação da permeabilidade vascular pelo Azul de Evans.....	32
4.4.1 Preparação da solução de Azul de Evans.....	32
4.4.2 Inoculação.....	33
4.4.3 Calibração do método.....	33
4.4.4 Obtenção de amostras para dosagem de Azul de Evans.....	34
4.4.5 Extração e dosagem de Azul de Evans.....	34

4.5 Dosagens bioquímicas em soro e ascite	35
4.5.1 Dosagem de Proteínas Totais e Albumina	35
4.5.2 Gradiente de Albumina Soro-Ascite	35
4.5.3 Dosagem de Sódio e Potássio	35
4.6 Contagem de Leucócitos	35
4.7 Avaliação da Translocação Bacteriana	35
4.7.1 Obtenção de amostras	35
4.7.2 Meios de Cultura empregados	35
4.7.2.1 Meios empregados para isolamento de <i>Escherichia coli</i>	35
4.7.2.2 Meios empregados para identificação de <i>Enterococcus faecalis</i>	36
4.7.3 Cultivo e Isolamento de bactérias	36
4.8 Avaliação Estatística	36
5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

LISTA DE ABREVIATURAS

°C = graus Celsius

g = grama

IgA = Imunoglobulina A

µg/g = micrograma por grama

µg/ml = micrograma por mililitro

mEq/ml = miliequivalente por mililitro

mg/ml = miligrama por mililitro

ml = mililitro

mm = milímetro

mM = milimoles

nm = nanômetro

MODS = Síndrome da Disfunção Múltipla dos Órgãos

NPT = Nutrição Parenteral Total

pH = potencial Hidrogeniônico

PMN = Polimorfonuclear

SIRS = Systemic Inflammatory Response Syndrome

(Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica)

SPF = Specific Pathogens Free

(Livres de Patógenos Específicos)

UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama

LISTA DE TABELAS

01- Relação entre concentração do Azul de Evans da solução padrão e densidade óptica a 620 nanômetros (nm) frente a solução fisiológica como branco.....	33
02- Comparação entre as médias ponderais dos animais sob evolução ascítica tumoral e controles.....	38
03- Avaliações bacteriológicas.....	39
04- Demonstrativo entre as avaliações bioquímicas em soro e ascite e contagem de leucócitos no sangue.....	40
05- Comparação entre as avaliações da permeabilidade vascular nos animais sob evolução ascítica tumoral e controles.....	41
06- Demonstrativo dos parâmetros estatísticos avaliados.....	42

RESUMO

Este estudo tem por objetivo pesquisar a translocação bacteriana em ratos, em vigência de ascite decorrente do processo tumoral induzido pelo Sarcoma 180. Para este propósito, recorreu-se à pesquisa de bactérias indicadoras de contaminação com flora enteral em sangue, líquido ascítico e órgãos. Determinou-se as concentrações de proteínas totais, albumina, sódio e potássio e avaliou-se a permeabilidade vascular intestinal, peritoneal e de tecido mesentérico. Foram utilizados 70 ratos Wistar, machos, com pesos compreendidos entre 212-257g. Os animais foram divididos em grupos A, B, C, D, E (evolução tumoral) com 10 ratos cada, os quais foram submetidos à inoculação de células tumorais intraperitonealmente e grupo F (controle) com 20 ratos. Nos períodos pré-determinados: 5º, 6º, 7º, 8º e 9º dias, os animais sob evolução tumoral foram avaliados: pela pesquisa bacteriológica através de amostras do sangue, líquido ascítico, nódulos linfáticos mesentéricos, pulmões, rins, fígado e baço, dosagens séricas e ascíticas de proteínas totais, albumina, sódio e potássio, contagem de leucócitos e determinação das concentrações do corante Azul de Evans extraído pela formamida 8 horas após inoculação do mesmo por via endovenosa. Os resultados da pesquisa bacteriológica demonstraram translocação de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* para 100% de todos os órgãos e líquido ascítico, a partir do 7º dia de evolução tumoral, comparada a 0% do grupo controle, ao passo que, não houve isolamento de bactérias em amostras de sangue de nenhum rato dos grupos estudados, controle ou sob evolução tumoral. Os resultados das dosagens de proteínas totais no soro, demonstraram diminuição estatisticamente significativa nos ratos sob evolução tumoral, em relação ao grupo controle. Ocorreu uma inversão do gradiente de albumina soro-ascite somente no grupo C (7º dia de evolução tumoral). As concentrações de sódio foram maiores no plasma que em ascite, enquanto que as concentrações de potássio, apresentaram esta relação inversa. A contagem de leucócitos demonstrou leucopenia progressiva. Nos animais sob evolução tumoral, foi observada a permeabilidade vascular aumentada em paredes intestinal e peritoneal e tecido mesentérico a partir do 5º dia de evolução tumoral. Conclui-se que ocorreu translocação bacteriana em ratos com ascite induzida por tumor, e que provavelmente a permeabilidade vascular aumentada, associada ao desequilíbrio iônico e protéico, e a leucopenia progressiva, sejam neste experimento, os fatores relacionadas à translocação bacteriana.

ABSTRACT

The aim of the present study, was to research the bacterial translocation in rats in the presence of ascitic fluid induced by the Sarcoma 180. This proposal was evaluated for the presence of enteric bacteria indicating fecal contamination in blood, ascitic fluid and tissues. The concentrations of total protein, albumin, sodium and potassium, and the evaluation of peritoneal, intestinal and mesenteric vascular permeability were determined. Seventy Wistar rats, all males, weighting from 212 to 257g were used. The animals were divided in groups A, B, C, D and E, (tumoral evolution), each of them with 10 rats, they were submitted to inoculation of tumoral cells intraperitoneally, and group F, (control) with 20 rats. On pre-determined days 5th, 6th, 7th, 8th and 9th the animals in tumoral evolution, were bacteriologically evaluated through samples of blood, ascitic fluid, mesenteric nodes, lung, kidney, liver and spleen, by determining seric and ascitic fluid of total protein, albumin, sodium, potassium and by determining the concentration of leukocytes and Evans blue, extracted by formamid, 8 hours after injected intravenous. The results of bacteriologic research showed that bacterial translocation was present in all organs and ascitic fluid in 100% of the animals, after the 7th day of tumoral evolution and in none of the animals in the control group, although, no bacteria was present in the blood of any groups of animals studied, control or tumoral evolution. The results of seric total protein, showed lower statistic meaning on rats with tumoral evolution, when related to the control group. The serum-ascitic albumin gradient was present only in group C (7th day of tumoral evolution). The seric sodium concentration showed to be bigger in the plasma than in the ascitic fluid, while the potassium concentration, showed an inverse relation. The leukocytes concentration showed leucopenia progressive. The vascular permeability was increased in the peritoneal and intestinal wall and mesenteric tissue since de 5th day of tumoral evolution. The results obtained conclude that, there was bacterial translocation in ascitic fluid induced by tumor and probably the increased permeability associated to ionic and protein disequilibrium and leucopenia progressive, were in this experiment related to bacterial translocation.

1. Introdução

1. Introdução

O termo ascite, do grego ASKÓS, utilizado pela primeira vez em 1398 por Trevisa, que significa bexiga, barriga ou bolsa, refere-se ao acúmulo de líquido na cavidade peritoneal. A ascite desde os primórdios da história da Medicina tem interessado pesquisadores, pois os Egípcios já demonstravam este conhecimento em 1500 antes de Cristo, citado por Dawson (1960) ⁽²⁹⁾ e Cohn (1985) ⁽²⁶⁾.

A etiologia da formação de coleções líquidas na cavidade peritoneal se revela mais complexa à medida que se aprofundam as indagações atinentes.

Muitas doenças, reconhecidas como indutoras de líquido livre dentro da cavidade peritoneal, estão relacionadas ora a processos patológicos que não afetam diretamente o peritônio, ora a processos consequentes a doenças peritoneais primárias ou sistêmicas. Assim é que aponta-se, como participantes frequentes dos processos mórbidos ascitogênicos na Europa e América do Norte a cirrose hepática, carcinose peritoneal, insuficiência cardíaca congestiva e peritonite tuberculosa, estas que justificam mais de 90% das ascites naquelas regiões ⁽¹²⁾, assim como na experiência local ⁽⁷⁷⁾.

A interpretação do fenômeno se modificou ao longo dos anos e ora dispõem-se para plausíveis explicações, o conceito de que a superfície peritoneal sendo membrana semipermeável, permite a difusão passiva de água e solutos entre a cavidade abdominal e os vasos subperitoneais, sanguíneos e linfáticos. Verifica-se de maneira geral que a absorção de água e solutos de peso molecular inferior a 2.000 quilodáltons, ocorre na cavidade peritoneal pelo sistema vascular, ao passo que, moléculas maiores e outras substâncias difundem-se pelos vasos linfáticos ⁽⁹⁶⁾.

As trocas líquidas entre os compartimentos ascítico e vascular, ocorrem principalmente através do leito capilar localizado sob o peritônio visceral, onde o líquido resgata rapidamente o equilíbrio osmótico em relação ao plasma ⁽⁹⁶⁾. Nessa ordem de conhecimentos, pode-se melhor compreender a presença de substâncias e elementos celulares, patológicos ou não, no fluido peritoneal normal e em coleções ascíticas.

Este tema, de grande significação doutrinária e não menos de interesse prático, deu lugar a amplos estudos, e ao que se observa na farta bibliografia atinente, não está esgotado. Certo porém, é que a partir do momento em que se relacionou infecção sem foco inicial definido em coleções ascíticas, iniciou-se novo momento para estas indagações, no sentido de elucidar os mecanismos pelos quais as bactérias entéricas escapariam de seus sítios normais e se disseminariam para outros.

Neste contexto, vários termos têm sido propostos para configurar a passagem de substâncias e microrganismos oriundos do trato gastrointestinal, que ao ultrapassarem a barreira intestinal atingem a circulação sanguínea e órgãos. Em 1965, dois investigadores alemães, Volkheimer e Schultz, citados por Volkheimer em 1974, observaram a passagem de partículas microscópicas de natureza viva ou morta, através da mucosa intestinal intacta, utilizaram para este fenômeno o termo *persorption*, termo este, ainda não adotado na literatura especializada em nosso meio ⁽¹⁰⁹⁾. Migração transmural ou *resorption*, este também ainda não adotado, descrevem a passagem de bactérias viáveis e a certas propriedades das mesmas em promover sua migração através da mucosa intestinal ^(93,102). Keller e Engley em 1958, parecem ser os primeiros a utilizar o termo translocação para descrever a passagem de microrganismos através do epitélio intestinal ⁽⁶⁶⁾. Subsequentemente Wolochow, Hildebrand e Lamanna em 1966, empregaram este termo para descrever a passagem de bactérias viáveis do trato gastrointestinal para nódulos linfáticos mesentéricos de ratos ⁽¹²⁰⁾. Estes termos sintetizam apenas o trânsito de microrganismos de locais definidos para outros, nos quais não estariam originalmente alocados, sem menção aos mecanismos envolvidos nestes processos.

A translocação de bactérias através da mucosa intestinal ocorre em distintas circunstâncias. Parece ser promovida isoladamente ou pela combinação dos seguintes fatores: alteração do balanço da microflora intestinal, debilitação das defesas imunes do hospedeiro e alterações físicas da barreira intestinal ⁽³²⁾. É talvez devido à multiplicidade destes fatores e à carência de medidas eficientes e disponíveis para prevenir a translocação bacteriana, que verifica-se em muitas situações a emergência de quadros sépticos que evoluem para Síndrome da Disfunção Múltipla dos Órgãos (MODS), sem definição de um foco original infeccioso ^(33,124,125). A procura de uma plausível explicação para o desenvolvimento

da MODS, agora denominada Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), sugere serem as alterações da barreira intestinal como resultado da presença extra-intestinal de toxinas e bactérias. Entretanto, a hipótese de origem intestinal ser responsável pela SIRS, parece pouco provável, devido estudos experimentais e humanos demonstrarem SIRS com isolamento bacteriano negativo. Porém, a exclusão desta hipótese como a maior contribuidora da SIRS pode ser prematura, devido à complexidade da inflamação nas túnica intestinais resultante da passagem de bactérias que não deve ser desprezada (101).

A patogênese da translocação bacteriana proveniente do trato gastrointestinal ocorre em etapas. Na primeira, concebe-se este processo ocorrendo em um hospedeiro hígido, quando é verificada a passagem de bactérias viáveis aos limites dos nódulos linfáticos mesentéricos, não sendo a partir destes, expandida para outros órgãos ou circulações linfática e sanguínea. Menciona-se que baixos níveis de translocação bacteriana oriundas do trato, como benéficas ao estimular o sistema imune e posteriormente, responder contra a invasão por bactérias patogênicas (30).

A segunda etapa, quando na qual estariam envolvidos organismos imunodeficientes, o processo seria extrapolado dos limites dos nódulos linfáticos mesentéricos, ocorrendo então, disseminação bacteriana sistêmica. Considera-se que a gravidade ou não desta colonização, estaria afeta à população bacteriana infectante e aos fatores de virulência contra os quais o organismo hospedeiro possa ou não superar estas agressões.

A terceira e última etapa da translocação bacteriana está associada a quadros clínicos sépticos com elevada morbi-mortalidade (32). Nestas situações o organismo não dispõem de recursos para superar as agressões advindas da virulência bacteriana, e muitos fatores atuam em sinergismo no sentido da debilitação de sua capacidade em conter as bactérias dentro dos limites intestinais, como são descritas nas infecções causadas por bactérias gastrintestinais aeróbias translocadas em pacientes imunocomprometidos por câncer (91).

Em diversas situações experimentais e clínicas têm sido descritas a segunda e terceira etapas, tais como: abscesso intra-abdominal (118), antibióticos (15,38,114), cirrose hepática (71,87), choque hemorrágico (9,14,39), dano térmico (3,36,41,72,73), doença de Crohn (7), doenças hematológicas (104), dreno (55), drogas imunossupressoras (4,17,64), endotoxinas (34), hepatectomia (111), hipertensão portal

(50,98), icterícia obstrutiva (40,83,97), inflamação sistêmica (75), irradiação abdominal (54), isquemia intestinal (43,89), laparotomia (121), nutrição parenteral total (NPT) (5,6,24,100), oclusão intestinal (31,37,85,122), pancreatite (102) e tumores (22,70,81).

Merecedores de especial referência, o estudo de Penn, Maca e Berg em 1985, que ao avaliarem microbiologicamente o modelo tumoral em camundongos inoculados com Sarcoma 180, demonstraram a presença de bactérias gastrintestinais aeróbias translocadas para nódulos linfáticos mesentéricos, fígado, baço, rins e cavidade peritoneal em 36% destes animais e apenas 9% dos animais controle, enquanto que os níveis de população bacteriana aeróbias no ceco, permaneciam similares em ambos os grupos. Também avaliaram a imunidade do tipo tardia que demonstrou estar suprimida nos animais tumorizados. Realçaram em seus resultados a ocorrência de translocação de bacilos gram negativos e outras bactérias aeróbias nativas do trato gastrintestinal, em níveis superiores nos camundongos induzidos com tumor e este aumento não teria sido causado pelo crescimento bacteriano nos intestinos, mas sim, pelo comprometimento imunológico secundário à evolução tumoral (81).

Estes achados, associados aos descritos por Kist em 1995, que ao estudar o Sarcoma 180 em ratos Wistar com o propósito de avaliar marcadores tumorais em líquido ascítico, permitiu a observação de que ocorria importante alteração da permeabilidade vascular peritoneal e de tecido mesentérico (68), o que poderia estar relacionado à uma conseqüente alteração da permeabilidade intestinal. A partir de tais raciocínios, levou-se a cabo este estudo, com o propósito de demonstrar aspectos físico-químicos da manifestação ascítica tumoral à translocação bacteriana.

2. Objetivo

2. Objetivo

Verificar se ocorre alteração de permeabilidade de microcirculação e translocação bacteriana em ratos submetidos aos efeitos da evolução ascítica induzida pelo Sarcoma 180.

3. Revisão da Literatura

3. Revisão da Literatura

O movimento de microrganismos nativos viáveis através da barreira intestinal tem sido reconhecido há mais de 100 anos, e os conceitos e observações destas primeiras descrições sobre sua etiologia e mecanismos são ainda ratificados. Muitos investigadores, no final do século XIX e início do século XX, relataram episódios de peritonites resultantes da invasão da cavidade peritoneal por bactérias nativas do trato gastrointestinal.

Fraenkel em 1891, demonstrou *in vivo* que bactérias viáveis poderiam ultrapassar a barreira intestinal intacta e referiu-se a este fenômeno, como uma *durchwanderungs Peritonitis*, ou seja, peritonite migratória (48).

Flexner em 1895, relatou que cocos gram positivos migravam passivamente pela barreira mucosa intestinal íntegra em modelo experimental de ratos. Sugeriu duas condições que predisporiam a passagem de microrganismos do trato alimentar para vísceras adjacentes: irritação da cavidade abdominal mediada por agentes químicos e a presença de processos inflamatórios crônicos no intestino, ou em outros tecidos, alterando a resistência natural do organismo (47).

Hornemann em 1911, sugeriu que bactérias poderiam migrar para o peritônio através da mucosa intestinal desde que a barreira intestinal estivesse alterada (62).

Kaufmann em 1922, observou que um trauma abdominal insignificante, reduzia a resistência peritoneal tornando-o mais suscetível à invasão de microrganismos intestinais (65).

Abt em 1923, adotou o termo peritonite migratória, para enfatizar a forma de peritonite causada pela passagem da flora bacteriana da luz intestinal para o peritônio na ausência de perfuração. Considerou o estado nutricional do hospedeiro importante na migração de microrganismos através da parede intestinal, observando que a contaminação bacteriana do peritônio aumentava quando existia déficit nutricional, sugerindo que, a desnutrição e a eliminação de ácidos graxos voláteis, subprodutos do metabolismo microbiano, como fatores responsáveis pelo aumento da permeabilidade intestinal (1).

Mandl em 1923, após realizar culturas sequenciadas da cavidade peritoneal, demonstrou que bactérias do trato alimentar intacto poderiam ultrapassar a barreira intestinal e produzir peritonite (75).

Von Gierke em 1926, citado por Edmiston e Condon em 1991, acreditava que a passagem de bactérias pela mucosa intestinal parecia ser um evento normal, o qual infreqüentemente resultava em doença, sugerindo que, bactérias poderiam alcançar o peritônio através do sistema linfático devido sua própria motilidade ou transportadas dentro de leucócitos polimorfonucleares (PMN) que normalmente passam pela barreira intestinal (42).

Arnold e Brody em 1928, utilizaram um modelo experimental em cães, para demonstrar que bactérias gram negativas viáveis, migravam através da mucosa duodenal intacta, durante condições de estresse ambiental ou fisiológico (11).

Arnold em 1930, propôs que em episódios de trauma ou dano térmico, o fígado e a região esplênica apresentavam aumento da permeabilidade a microrganismos. Os resultados destes estudos demonstraram que, bactérias com acesso ao sistema linfático após migração através da barreira intestinal, poderiam chegar ao sistema venoso portal e fígado. Concluiu que a permeabilidade intestinal às bactérias poderia ocorrer na presença de mucosa intestinal íntegra, e que após a migração, as bactérias eram encontradas em grandes concentrações no fígado e linfonodos mesentéricos (10).

Schweinburg, Frank, H. A., Frank, E. D., Heimberg e Fine em 1949, demonstraram que a irritação química do peritônio com mono-oleato, estava associada com a contaminação da cavidade peritoneal por *Escherichia coli*. Esta contaminação entretanto, limitava-se a menos de 50 colônias por placa de cultura, e todos os cães tornaram-se negativos após remoção do agente irritante (92).

Schweinburg, Seligman e Fine em 1950, confirmaram os mesmos achados dos primeiros estudos sobre a passagem de bactérias pela barreira intestinal, especialmente gram negativas. Esta passagem para cavidade peritoneal não era dependente da motilidade das bactérias, uma vez que bactérias vivas ou mortas passavam com igual facilidade, enquanto que a invasão para circulação sanguínea foi insignificante. Afirmaram que esta

migração pela barreira intestinal, não era um processo em massa, e as bactérias ultrapassariam esta em pequenas quantidades e por período longo de tempo (93).

Gordon, Ruml, Hahne e Miller em 1955, expuseram ratos a irradiações ionizantes, e verificaram que as culturas em fígado e baço com microrganismos entéricos, apresentavam-se positivas antes da circulação sanguínea, parecendo que elementos do sistema retículo endotelial seriam capazes de manter a esterilidade sanguínea por algum tempo (53).

Schatten, Desprez e Holden em 1955, verificaram através de estudo microbiológico de amostras de sangue portal de humanos com ligadura da artéria hepática, que ocorria a passagem de bactérias da luz intestinal para o sangue portal, com contaminação secundária do fígado (90).

Wolochow, Hildebrand e Lamanna em 1966, foram pioneiros ao utilizarem o termo translocação bacteriana, demonstrando a impossibilidade de passagem da *Pasteurella pestis* em relação à *Serratia marcescens*, bactéria esta similar em tamanho à *Pasteurella pestis*. Estes resultados sugerem que o tamanho é somente um fator que determinou se um microrganismo em particular pode passar através da parede intestinal por um processo não infeccioso (120).

Fuller e Jayne-Williams em 1970, verificaram que a translocação de bactérias oriundas da luz intestinal para o fígado de galinhas, estava restrita aos primeiros quatro dias de vida e após este período, a incidência de bactérias no fígado diminuía rapidamente (49).

Van der Waaij, Berghuis de Vries e Lekkerkerk Van der Wees em 1972, comprovaram em camundongos que a estabilidade do ecossistema intestinal promove aumento da resistência do intestino à colonização bacteriana, demonstrando que alterações da flora normal, são responsáveis pela rápida disseminação de bactérias para linfonodos mesentéricos (108).

Kellerman, Waterman e Scharfenberger em 1976, relataram que translocação bacteriana pode ocorrer dentro de 15 horas em média após desvitalização do segmento intestinal. Os primeiros microrganismos a translocarem são os *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sp. e *Enterobacteriaceas*. Afirmaram também, que sob condições de isquemia intestinal, as bactérias anaeróbias migravam através da mucosa intestinal, na mesma proporção que as aeróbias, e as quantidades daqueles microrganismos

encontrados fora da luz intestinal, são superiores às concentrações observadas nos estudos tradicionais sobre translocação bacteriana (67).

Hohmann, Schmidt e Rowley em 1978, observaram como importante aspecto o reconhecimento da translocação bacteriana na invasão microbiana da mucosa intestinal, que está associada com patógenos intestinais típicos como: *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni* e *Entamoeba histolítica*, e na dependência dos fatores de virulência destes microrganismos, os quais estão geralmente associados com alterações da flora intestinal normal (60).

Berg e Garlington em 1979, relataram que bactérias viáveis não foram isoladas em nódulos linfáticos mesentéricos, baço e fígado de camundongos SPF (livres de patógenos específicos). Entretanto, bactérias entéricas, primariamente nativas, como a *Escherichia coli* e *Lactobacilos*, estiveram presentes nos nódulos linfáticos de camundongos gnotobióticos após inoculação intragástrica com a microflora cecal total de camundongos SPF, mas não nos nódulos controle destes, similarmente inoculados. Sugerindo que, altos níveis de população bacteriana poderiam promover a translocação de certas bactérias gastrintestinais para os nódulos linfáticos mesentéricos e que aparentemente, existem mecanismos ativos nos camundongos SPF, que inibem esta, enquanto que estão ausentes ou reduzidos nos camundongos gnotobióticos (16).

Owens e Berg em 1980, estudaram o papel da imunidade dependente da célula-T na prevenção da translocação bacteriana do trato gastrintestinal, utilizando camundongos congênitos atímicos Nude, heterozigotos e enxertados com timo. Verificaram que, as bactérias viáveis com predominância da *Escherichia coli* e *Lactobacilos*, foram isoladas em 50% dos nódulos linfáticos mesentéricos, fígado, baço e rins de ratos atímicos, 5,2% em ratos heterozigotos e 7,8% em ratos com enxerto de timo. Portanto, as respostas imunológicas dependentes da célula T, foram restauradas por enxertos tímicos, inibindo a translocação de bactérias nativas do trato gastrintestinal (80).

Berg em 1981, verificou em modelo de camundongos SPF, que a incidência de translocação de bacilos entéricos para nódulos linfáticos mesentéricos, foi em média de 100% após tratamento com penicilina, 97% com clindamicina e 62% com metronidazol. Concluiu que, o tratamento com estes antibióticos por somente 4 dias, altera a ecologia da flora normal, permitindo o

crescimento de bacilos entéricos gram negativos no ceco e promovendo sua translocação para nódulos linfáticos mesentéricos (15).

Steffen e Berg em 1983, estudaram a população total de cada tipo de bactéria no ceco de camundongos gnotobióticos e compararam com a população encontrada nos nódulos linfáticos mesentéricos destes. Verificaram que havia relação direta entre o número de uma espécie bacteriana colonizando o ceco e os nódulos linfáticos mesentéricos (102).

Ambrose, Johnson, Burdon e Keighley em 1984, demonstraram a incidência das bactérias patogênicas nos nódulos linfáticos mesentéricos e serosa ileal durante procedimento cirúrgico em 46 pacientes portadores da doença de Crohn, e compararam com 43 operações para outras condições. Verificaram que, as bactérias potencialmente patogênicas isoladas eram oriundas da serosa em 27% dos pacientes com doença de Crohn e em 6% dos pacientes controle, e nos nódulos linfáticos mesentéricos em 33% daqueles e em 5% destes. Concluíram que, a bactéria evade da luz intestinal em alta proporção de pacientes com doença de Crohn, podendo explicar a patogênese de abscessos e fístulas nesta doença, assim como a alta prevalência de sepse seguida pela cirurgia eletiva, mesmo na ausência de contaminação macroscópica (7).

Maejima, Deitch e Berg em 1984, estudaram modelo experimental de ratos submetidos ao dano térmico de 20 ou 40% da área total de superfície corporal e observaram que, nenhuma bactéria nativa foi cultivada nos nódulos linfáticos mesentéricos, cavidade peritoneal e sangue de ratos controle ou submetidos à 20% do dano térmico. Entretanto, os animais submetidos a 40% de queimadura, exibiram *Escherichia coli* viável, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* sp. e *Clostridium* sp. em seus nódulos linfáticos mesentéricos. Estes resultados apoiam o conceito de que a flora gastrointestinal nativa ou organismos exógenos colonizando o trato gastrointestinal são potenciais origens de septicemia após lesões térmicas (73).

Maejima, Deitch e Berg em 1984, estabeleceram modelo em camundongos SPF submetidos à 15 ou 30% de dano térmico da área total de superfície corporal e verificaram que, nenhuma bactéria viável aeróbia, facultativamente anaeróbia ou estritamente anaeróbia da flora nativa, esteve presente na cultura de nódulos linfáticos mesentéricos destes. Entretanto, quando descontaminados com antibióticos, colonizados com *Escherichia coli* e

submetidos ao dano térmico, verificaram que a incidência e os números de *Escherichia coli* translocando para nódulos linfáticos mesentéricos, baço, fígado, sangue e cavidade peritoneal, aumentaram com o maior dano térmico (74).

Alverdy, Chi e Sheldon em 1985, observaram se a via da administração de nutrientes afetaria ou não a secreção de imunoglobulina A (IgA) através da coleta de bile. Os ratos foram divididos em 3 Grupos: Grupo I (NPT), Grupo II (gastrostomia) e Grupo III (controle). Os ratos dos Grupos I e II foram submetidos à solução padrão de hiperalimentação calórica por 16 dias e após este período, aquele foi submetido à alimentação enteral por mais 8 dias. Os resultados indicaram que no 16º dia, os níveis de secreção de IgA em mg/ml nestes ratos foram 1.1 ± 0.2 e após 8 dias, aumentaram para 1.8 ± 0.4 , enquanto que nos ratos dos Grupos II e III foram 2.2 ± 0.6 e 2.2 ± 0.26 respectivamente. Concluíram que a diferença nos níveis de secreção de IgA de ratos nutridos pelas vias enteral e parenteral, sugerem que uma importante defesa de barreira é comprometida durante a alimentação parenteral, e que os ratos do Grupo II, mantiveram níveis melhores de secreção de IgA do que os ratos do Grupo I, e o rápido retorno para níveis normais após reassumida a nutrição enteral sugere que a presença intraluminal de alimentos é essencial para secreção de IgA (6).

Tancredi e Andremont em 1985, verificaram em estudo prospectivo a contagem de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* nas espécimes fecais de pacientes leucêmicos com bacteremia gram-negativa. O tipo isolado no sangue e fezes de 55 pacientes foram comparados. Translocação do tipo fecal na qual era dominante *Enterobacteriaceae* ou *Pseudomonas aeruginosa*, foi observado em 45 casos (82%) e foi fortemente associada com granulocitopenia. Concluíram que, as análises prospectivas qualitativas e quantitativas da flora fecal, foram úteis em prever a mais provável translocação de organismos gram-negativos em pacientes leucêmicos neutropênicos, com sinais clínicos de bacteremia (104).

Deitch, Winterton e Berg em 1986, propuseram modelo experimental em camundongos convencionais, atímicos e heterozigotos, e estes foram submetidos ao dano térmico de 30% da superfície corporal, nos quais avaliou-se a imunidade mediada pela célula-T. Observaram que, a translocação bacteriana somente ocorreu em ratos atímicos com deficiência da imunidade mediada pela célula-T. O crescimento bacteriano não foi responsável por estes achados, uma vez que

níveis de bactéria entérica cecal não foram diferentes entre os grupos. Concluíram que, a translocação foi aumentada nos camundongos atímicos com dano térmico por deficiência da imunidade mediada pela célula-T⁽⁴¹⁾.

Morehouse, Specian, Stewart e Berg em 1986, verificaram que duas horas após a administração intragástrica de ácido ricinoléico em camundongos SPF, produziu significantes alterações na mucosa intestinal do intestino delgado proximal. Verificaram que, as vilosidades duodenais apresentaram-se marcadamente encurtadas, com exfoliação massiva de células caliciformes e colunares, resultando em alteração da barreira mucosa com continuidade entre o a luz intestinal e lâmina própria, ocorrendo translocação de bactérias da flora gastrintestinal nativa para nódulos linfáticos mesentéricos, baço e fígado, principalmente de bactérias estritamente anaeróbias⁽⁷⁹⁾.

Wells, Rotstein, Pruett e Simmons em 1986, observaram em ratos com abscesso intra-abdominal experimentalmente induzido com bactérias definidas, a presença neste de bactérias intestinais translocadas. As espécies recuperadas em ordem decrescente de frequência foram os *Enterococcus* e a *Escherichia coli*. Concluíram que estas são decorrentes da migração transmural em resposta ao processo inflamatório na cavidade peritoneal⁽¹¹⁸⁾.

Deitch e Berg em 1987, determinaram a influência da mal nutrição protéica e endotoxemia, na translocação bacteriana em camundongos submetidos ao dano térmico de 25% e controles. Os resultados destes experimentos documentaram que, mal nutrição protéica não promoveu translocação bacteriana em ambos modelos animais. Em contraste, uma dose não letal de endotoxina promoveu translocação bacteriana para nódulos linfáticos mesentéricos nestes modelos, no entanto, somente naqueles, as bactérias translocaram do intestino para órgãos sistêmicos. Estes estudos apoiam o conceito de que, as bactérias podem translocar do intestino para outros órgãos e portarem-se como potencial fonte de infecções letais após dano térmico⁽³⁴⁾.

Deitch, Berg e Specian em 1987, realizaram experimentos em camundongos com endotoxinas e promoveram a translocação bacteriana oriunda do intestino para nódulos linfáticos mesentéricos. A translocação bacteriana para nódulos linfáticos mesentéricos foi similar quando a endotoxina foi administrada por via intramuscular ou intraperitoneal, embora o número de bactérias colonizando os nódulos linfáticos mesentéricos tenham sido maiores nesta. A

incidência e magnitude da translocação induzida pela endotoxina foram similares entre camundongos CD1 e C3H/HeJ, indicando que a translocação bacteriana não é prevenida por resistência genética à endotoxina ⁽³⁵⁾.

Deitch e Bridges em 1987, estudaram em modelo experimental de camundongos CD1: o efeito do estresse por exposição ao frio sem dano tecidual, trauma por fratura femoral e dano térmico de 30% com preservação de tecido necrótico, na translocação bacteriana. A incidência desta para órgãos sistêmicos foi de 11% nos camundongos com fratura femoral, 1% nos camundongos com dano térmico e 0% nos camundongos expostos ao frio. No entanto, quando os animais foram associados com *Escherichia coli* a incidência de translocação bacteriana foi de 17%, 60% e 0% respectivamente. Concluíram que, a preservação do tecido necrótico promoveu translocação bacteriana especialmente quando a ecologia normal da flora intestinal tenha sido alterada ⁽³⁶⁾.

Wells, Maddaus e Simmons em 1987, observaram os macrófagos na translocação bacteriana em grupos de camundongos Webster (imunocompetentes) e C3H/HeJ (macrófagos deficientes). Estes foram descontaminados com bacitracina e estreptomicina e associados à *Escherichia coli*. Observaram que a *Escherichia coli* esteve presente em 100% de cada um dos 4 experimentos em nódulos linfáticos mesentéricos da linhagem Webster, e 10%, 40%, 30% e 50% dos C3H/HeJ. Aos camundongos Webster, foram administrados *Escherichia coli* fluoresceína marcada e observaram que esta foi detectada exclusivamente na população de macrófagos. Estes resultados apoiam a hipótese de que os macrófagos intestinais podem representar o transporte de partículas intestinais, incluindo bactérias para locais extra-intestinais ⁽¹¹⁶⁾.

Alverdy, Aoye e Moss em 1988, avaliaram em ratos a via da administração dos nutrientes, enteral e parenteral, na translocação bacteriana. Entre os animais alimentados com NPT, 2/3 apresentaram culturas positivas nos nódulos linfáticos mesentéricos, comparados com 1/3 do grupo tratado com alimentação enteral e nenhum do grupo controle. O aumento significativo na contagem de bactéria cecal, foi demonstrado nos animais tratados com NPT. Concluíram que, a NPT promove translocação bacteriana do intestino por aumentar o nível de população cecal e enfraquecer as defesas intestinais ⁽⁵⁾.

Baker, Deitch, Li, Berg e Specian em 1988, verificaram se o choque hemorrágico poderia ou não, promover a translocação bacteriana do intestino para órgãos viscerais. Os ratos foram submetidos à 30, 60 ou 90 minutos de choque. Verificaram que, houve relação direta entre a duração deste e a média de mortalidade nas 24 horas. Ratos sujeitos a 90 minutos de choque exibiram maior grau de translocação bacteriana, do que ratos recebendo 30 ou 60 minutos deste (14).

Berg, Wommack e Deitch em 1988, relataram que, bacilos gram negativos do trato gastrointestinal translocaram primariamente para nódulos linfáticos mesentéricos em camundongos, nos quais foram administrados penicilina ou clindamicina, ou quando da administração de ciclofosfamida ou prednisona. Nos animais tratados com a combinação destes, ocorreu disseminação sistêmica e para cavidade peritoneal, e quando este tratamento estendeu-se para 12 dias, os camundongos morreram de sepse a partir do 8º dia. Concluíram que, a combinação do crescimento bacteriano intestinal e imunossupressão do hospedeiro, sinergicamente, promoveram translocação bacteriana de espécies gastrintestinais, o que resultou em sepse (17).

Steffen, Berg e Deitch em 1988, compararam a relativa habilidade de vários aeróbios, anaeróbios facultativos e bactérias anaeróbias obrigatórias, em translocar do trato gastrointestinal para nódulos linfáticos mesentéricos em camundongos gnotobióticos. Observaram que, os bacilos entéricos gram negativos translocaram em grande número para nódulos linfáticos mesentéricos, enquanto bactérias gram positivas translocaram em níveis intermediários e bactérias anaeróbias obrigatórias somente em muito baixo nível (103).

Ziegler, Smith, O'Dwyer, Demling e Wilmore em 1988, questionaram se o dano térmico poderia ser ou não associado à alteração da integridade da barreira intestinal normal. Para testar esta hipótese, avaliaram a permeabilidade intestinal para o dissacarídeo lactulose, o qual é eficientemente excretado pela mucosa intestinal normal. Os estudos foram realizados em 15 pacientes que apresentavam 40% de dano térmico e em 11 pacientes saudáveis. A lactulose foi administrada via oral com o manitol como controle, e as médias de excreção urinária foram determinadas. Verificaram que a excreção de lactulose e a proporção de excreção lactulose/manitol aumentaram 3 vezes nos pacientes

infectados, enquanto que, nos pacientes com dano térmico não infectados os valores de permeabilidade foram similares daqueles controles (126).

Burke, Alverdy, Aoys e Moss em 1989, verificaram o efeito da nutrição suplementada com glutamina na função imune do intestino em relação à translocação bacteriana. Em estudo comparativo dos ratos que receberam NPT com os ratos que receberam esta suplementada com glutamina a 2%, verificaram que estes foram protegidos contra a translocação bacteriana oriunda do intestino em relação àqueles (23).

Deitch em 1989, desenvolveu um estudo para determinar a translocação bacteriana em humanos, através dos nódulos linfáticos mesentéricos obtidos em laparotomia de 42 pacientes, nenhum dos quais estavam clinicamente infectados. Entre os 42 pacientes, 17 apresentavam-se com obstrução intestinal, 10 destes (59%) apresentavam bactérias isoladas em seus nódulos linfáticos mesentéricos. Entre os outros 25 pacientes operados por outras razões, somente 1 (4%) demonstrou nódulos infectados, e a bactéria mais comumente isolada foi a *Escherichia coli*. Portanto, a obstrução intestinal esteve associada à translocação bacteriana (31).

Guzman-Stein, Bonsack, Liberty e Delaney em 1989, avaliaram se uma única exposição à irradiação abdominal em ratos conduziria ou não à translocação bacteriana para nódulos linfáticos mesentéricos. Verificaram que o grupo irradiado, o qual recebeu anestesia, conduziu à 100% de cultura positiva em nódulos linfáticos mesentéricos, quando comparado com controle e um terceiro grupo, o qual recebeu somente anestesia (54).

Ma, L., Ma, J. W., Deitch, Specian e Berg em 1989, verificaram a susceptibilidade genética em camundongos CD1, Balb/c e C57/bl ao dano da mucosa, conduzindo à translocação bacteriana quando submetidos à 25% de dano térmico. Verificaram que as bactérias somente translocaram para nódulos linfáticos mesentéricos de camundongos Balb/c e observaram que a mucosa intestinal danificada pareceu ser mediada, no mínimo em parte, pela atividade xantina-oxidase gerando radicais livres de oxigênio, uma vez que, a inibição daquela com alopurinol ou inativação por uma dieta livre de elementos químicos, preveniu as lesões da mucosa e reduziu a extensão da translocação bacteriana (72).

Zapata-Sirvent, Larocca, Piñate, Antequera, Gonzalez, Medico, Paris, Castro, Marzullo, Olavarria e Pifano em 1989, através de modelo de oclusão intestinal em ratos, estudaram as alterações histológicas na parede intestinal e nódulos linfáticos mesentéricos em diferentes intervalos de tempo. Demonstraram que, 24 horas após oclusão intestinal, ocorria a presença de congestão, edema e infiltrado inflamatório até o nível da lâmina própria e reatividade nos nódulos linfáticos mesentéricos. Enquanto que após 48 horas, a congestão e o edema aumentaram e a mucosa intestinal começou a fragmentar-se, permitindo às bactérias translocar e alcançar os nódulos linfáticos mesentéricos, associada à reatividade aumentada destes. A observação de translocação bacteriana na oclusão intestinal, amplia ainda mais o conjunto de alterações observadas nesta patologia, onde não somente se produz a absorção de produtos tóxicos e endotoxinas ao nível do segmento comprometido, como podem explicar a incidência de bacteremia e sepse ⁽¹²²⁾.

Alexander, Boyce, Babcock, Gianotti, Peck, Dunn, Pyles, Childress e Ash em 1990, estudaram o processo da translocação microbiana utilizando *Candida albicans*, *Escherichia coli* ou endotoxinas instiladas dentro das vilosidades de porcos e ratos submetidos ao dano térmico de 50% da superfície corporal. Observaram que a translocação destes, ocorreu por penetração direta nos enterócitos e quando da passagem para lâmina própria, pareceu ser associado com alteração da membrana basal e foram fagocitados e encontrados livres nos linfáticos e vasos sanguíneos. Concluíram que, este fenômeno descritivo forneceu nova compreensão para importância dos enterócitos e células intestinais imunes no processo de translocação ⁽²⁾.

Deitch, Bridges, Ma, J. W., Ma, L., Berg e Specian em 1990, utilizaram modelo de oclusão intestinal em camundongos e demonstraram que dentro de 6 horas após esta, bactérias tinham translocado para nódulos linfáticos mesentéricos e 24 horas após, tinham disseminado para fígado, baço e circulação sanguínea. A translocação bacteriana, raramente ocorreu em animais submetidos a laparotomia e oclusão intestinal falsa, indicando que, não foi devido ao estresse cirúrgico. Os resultados demonstraram que, translocação bacteriana induzida por oclusão intestinal, pareceu ser devido a alteração da ecologia da microflora intestinal normal, devido ao aumento do número de certos bacilos entéricos e dano da mucosa ⁽³⁷⁾.

Deitch, Morrison, Berg e Specian em 1990, referem que a translocação bacteriana e dano da mucosa intestinal ocorreram 2 horas após um episódio de 30 minutos de choque hemorrágico, embora a extensão histológica do dano da mucosa intestinal tenha sido menor na segunda do que nas primeiras 24 horas pós-choque, e em ambas, a função de barreira intestinal foi perdida, medida pela permeabilidade para a peroxidase (39).

Deitch, Sittig, Li, Berg e Specian em 1990, observaram icterícia obstrutiva como causa da translocação bacteriana em camundongos. Verificaram translocação bacteriana em camundongos submetidos a ligadura do ducto biliar comum (33%), comparada aos submetidos a falsa ligadura (7%) e controle (5%). Os níveis cecais de bacilos entéricos gram negativos, também foram 100 vezes mais altos nos camundongos submetidos a ligadura, indicando que o crescimento da população bacteriana intestinal foi o maior responsável pela translocação bacteriana. O aspecto da mucosa intestinal dos camundongos com falsa ligadura e controle foi normal, em contraste, edema subepitelial envolvendo vilosidade ileal estava presente nos camundongos com ligadura do ducto biliar comum. Concluíram que, a ausência de bile dentro do trato gastrointestinal permite o crescimento dos bacilos entéricos intestinais e sua associação ao dano da mucosa, promoveram a translocação bacteriana (40).

Lescut, Colombel, Vincent, Cortot, Fournier, Quandalle, Vankemmel, Triboulet, Wurtz, Paris e Leclerc em 1990, estudaram translocação bacteriana em pacientes portadores de câncer colorretal. Os nódulos linfáticos peri-colônicos, fígado, sangue portal e serosa intestinal foram coletados antes dos antibióticos serem administrados durante 20 operações para câncer colorretal e comparados com 20 operações devido à outras condições. Verificaram que, translocação bacteriana foi encontrada em 13 pacientes (65%) do grupo de câncer colorretal e em 6 (30%) do grupo controle, e em ambos os grupos, bactérias não foram isoladas no sangue portal. Estes achados sugerem que, a bactéria intestinal transloca da luz intestinal em alta proporção de pacientes com câncer colorretal, e sugere a necessidade de antibiótico profilático nestes (70).

Souba, Klimberg, Hautamaki, Mendenhall, Bova, Howard, Bland e Copeland em 1990, verificaram que a exposição à uma única irradiação abdominal causou dano da mucosa intestinal e resultou em alta incidência de cultura positiva de nódulos linfáticos mesentéricos. Após esta irradiação, os ratos

foram submetidos à dieta suplementada com glutamina. Nos ratos irradiados que receberam dieta livre de glutamina, a incidência de cultura positiva para nódulos linfáticos mesentéricos foi de 89%, enquanto naqueles, a incidência diminuiu para 20%. Os resultados conduzem à hipótese de que, a glutamina ajuda a manter a barreira da mucosa intestinal, diminuindo a incidência de translocação bacteriana seguida de dano intestinal (99).

Spaeth, Berg, Specian e Deitch em 1990, estudaram grupos de ratos para determinar se a via e ou a composição nutricional, alteraria ou não, a função de barreira intestinal. Observaram que, a translocação bacteriana não ocorreu em ratos controle, porém ocorreu em 60% dos ratos alimentados com NPT ou enteral por 7 dias. Entretanto, quando estas foram associadas à celulose, verificaram que diminuiu a incidência de translocação bacteriana para 8% no grupo de nutrição enteral e 0% no grupo de NPT. Concluíram que a celulose preveniu a translocação bacteriana, primariamente por impedir as alterações induzidas pela NPT na estrutura da mucosa (100).

Wells, Jechorek e Erlandsen em 1990, estudaram a patogênese da translocação bacteriana em camundongos através da descontaminação antibiótica com metronidazol e estreptomicina, seguida da inoculação oral do *Streptococcus faecalis*. Verificaram que estes foram recuperados nos nódulos linfáticos mesentéricos, fígado e baço, e observados aderidos à borda da microvilosidade do epitélio viloso completo, incluindo regiões profundas das criptas intestinais. A imunofluorescência, localizou-os dentro de células epiteliais colunares, lâmina própria, submucosa e muscular externa, incluindo a luz de pequenos vasos. Estes resultados indicam que o *Streptococcus faecalis* pode translocar através do trato intestinal intacto e causar infecção sistêmica e morte (114).

Alexander, Gianotti, Pyles, Carey e Babcock em 1991, estudaram a cinética da distribuição tecidual, deposição da *Escherichia coli* e endotoxinas quando inoculadas via intragástrica em camundongos, seguidos de dano térmico de 30%. Verificaram que, a translocação de *Escherichia coli* ocorreu 1 hora após o dano térmico e quando expressada como quantia de radioatividade por grama de tecido, observaram ser aumentada para nódulos linfáticos mesentéricos, baço, pulmão e fígado, enquanto que a translocação de endotoxinas foi similar, com a

exceção de que menos radioatividade pode ser encontrada na cavidade peritoneal e mais no fígado (3).

Alverdy e Aoyas em 1991, avaliaram em ratos o efeito da administração da dexametasona na imunidade da mucosa, especificamente na aderência bacteriana e secreção de IgA. Os resultados indicaram que, os animais tratados com dexametasona, apresentaram diminuição da secreção de IgA, aumento na aderência bacteriana e na incidência de translocação bacteriana para os nódulos linfáticos mesentéricos, de 60% para 0% no grupo controle. Concluíram que, os glicocorticóides podem promover a translocação bacteriana por enfraquecimento da síntese de IgA (4).

Jones II, Barber, Kapur, Hawes, Fahey III, Minei, Shires III, Calvano e Shires em 1991, verificaram se a sobrevivência das bactérias nos nódulos linfáticos mesentéricos poderia ser ou não, influenciada pelos níveis fisiopatológicos de corticosterona, através da análise quantitativa nos nódulos linfáticos mesentéricos de ratos escolhidos ao acaso dos seguintes grupos: sepse por dano térmico, sepse por dano térmico com resposta adrenocortical atenuada pela ciclosporina e sepse por dano térmico com resposta adrenocortical atenuada pela ciclosporina com reposição de corticosterona. Concluíram que, as elevações dos níveis de corticosterona durante a sepse podem externar um efeito que permite a sobrevivência das bactérias translocadas, provavelmente devido às alterações dos glicocorticóides associados ao sistema imune (64).

Mainous, Tso, Berg e Deitch em 1991, propuseram estudar a via e a magnitude da translocação bacteriana em modelo experimental de ratos com inflamação sistêmica, induzido por dosagens diferentes de zymosan. Verificaram que, com a dose de 0,1 mg/g, bactérias translocaram apenas para nódulos linfáticos mesentéricos, enquanto que com a dose de 0,5 mg/g disseminaram-se sistemicamente, parecendo preferir a via portal (87%) à via linfática (25%). Portanto, a via e a extensão da translocação bacteriana variam baseados na magnitude da agressão inflamatória, onde o sangue portal pareceu ser a via mais importante (75).

Mora, Cardona e Simmons em 1991, implantaram intraperitonealmente em camundongos, materiais protéticos livres de endotoxinas e estéreis (*Dracon velour*®, *woven Dracon*®, *Biomer polyurethane*® e algodão). Observaram que, *Biomer*® e *woven Dracon*® tornaram-se contaminados com 100 à 10.000

bactérias entéricas, incluindo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* e *Staphylococcus* sp dentro de 3 dias, enquanto que, algodão e *Dracon velour*® foram contaminados dentro de 24 horas, e os nódulos linfáticos mesentéricos mostraram incidências paralelas de translocação. Os resultados sugerem que, um estímulo reativo estéril intraperitoneal, pode induzir a translocação bacteriana para próteses através da parede intestinal normal (78).

Saydjari, Beerthuisen, Townsend, Herndon e Thompson em 1991, verificaram a relação da translocação bacteriana com o fluxo sanguíneo intestinal e integridade da mucosa, utilizando porcos para este experimento. Os animais foram divididos em grupos: 50% de redução mecânica no fluxo sanguíneo para a artéria mesentérica superior e artéria celíaca, e dano térmico de 40%. Após 48 horas, bactérias intestinais estavam presentes nos nódulos linfáticos mesentéricos de 9 dos 9 porcos com dano térmico, e 5 dos 6 porcos sob oclusão vascular parcial. O ácido desoxirribonucléico contido, e a atividade ornitina-descarboxilase foram aumentados na mucosa do cólon de ambos os grupos. Concluíram que, a diminuição do fluxo sanguíneo para o intestino, pode contribuir para o desenvolvimento da translocação bacteriana (89).

Zapata-Sirvent, Monaco, Piñate, Medico, Urbina, Larocca, Antequera, Guzman e Pifano em 1991, verificaram em modelo de ratos de oclusão intestinal, os tipos de microrganismos e órgãos, para os quais as bactérias frequentemente translocam. Nas primeiras 24 horas pós-occlusão intestinal, foram isoladas culturas positivas nos nódulos linfáticos mesentéricos, circulação portal, circulação sistêmica e cavidade peritoneal, estabelecendo assim, que a translocação é bidirecional. As bactérias mais frequentemente isoladas foram o *Streptococcus* Grupo D, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. e *Clostridium*. A translocação bacteriana nas primeiras 24 horas deveu-se à um aumento na permeabilidade intestinal, e em 48 horas correlacionou-se à alteração física da propriedade de barreira da mucosa intestinal (123).

Campos em 1992, estudou em ratos recebendo NPT: as alterações morfológicas que ocorrem no intestino delgado e a incidência de translocação bacteriana devido a oclusão intestinal. Verificou que ocorrem alterações atróficas no intestino de ratos recebendo NPT por 7 dias e não ocorreu translocação bacteriana em ratos controle ou após oclusão intestinal de 12 horas. Entretanto, esta pode ocorrer em ratos mantidos em NPT por 7 dias (24).

Slocum, Sittig, Specian e Deitch em 1992, realizaram um estudo para determinar se foi a ausência de bile intestinal ou a presença de obstrução biliar que promoveu translocação bacteriana. Foram estudados grupos de ratos controle, falsa ligadura do ducto biliar comum, ligadura do ducto biliar comum e anastomose colédoco-vesical. Verificaram que, a incidência de translocação bacteriana foi de 41% nos animais submetidos a ligadura do ducto biliar comum, 32% em anastomose, 3% em controles e 5% em falsa ligadura. Secções histológicas destes grupos, exceto grupo controle, demonstraram edema subepitelial intestinal. Estes achados sugerem que, é primariamente a ausência de bile no intestino que promove dano da mucosa e translocação bacteriana (97).

Wang, Andersson, Soltesz e Bengmark em 1992, verificaram em estudo experimental em ratos, culturas positivas em nódulos linfáticos mesentéricos: 2 horas após remoção de 70% e 90% de hepatectomia, e 12 horas após 50% de hepatectomia, persistindo por 3-4 dias. A incidência de bacteremia 2 e 4 horas após 90% de hepatectomia foram 80% e 100% respectivamente, e 6 horas após 70% de hepatectomia foi de 33%. Culturas de sangue foram positivas em somente 6% dos ratos seguidos de 50% de hepatectomia e nenhum dos controles. Concluíram que, translocação bacteriana ocorreu no curso inicial após hepatectomia e a incidência é proporcional para amostra do tecido hepático removido (111).

Brooks, May, Sedman, Tring, Johnstone, Mitchell e MacFie em 1993, avaliaram a translocação bacteriana em estudo prospectivo de pacientes cirúrgicos. Foram estudados 114 pacientes e verificaram translocação bacteriana em 18 pacientes (16%). Ocorreram complicações sépticas pós-operatórias em 5 destes (28%) e em 13 (14%) dos 96 pacientes, nos quais não houve translocação. Concluíram que, translocação bacteriana pode ocorrer em humanos e pode predispor à complicações sépticas em pacientes cirúrgicos (22).

Garcia-Tsao, Albillos, Barden e West em 1993, observaram modelo experimental em ratos com hipertensão portal aguda e crônica, e sua relação com a translocação bacteriana. Os resultados demonstraram que 92% dos ratos com hipertensão portal aguda, apresentaram culturas positivas de nódulos linfáticos mesentéricos, em relação ao grupo controle (31%). Entretanto, nenhuma diferença significativa na translocação para linfonodos foi encontrada nos ratos com hipertensão portal crônica (20%) e controle (27%). Nem na

hipertensão aguda ou crônica, foram isoladas bactérias no sangue, baço ou fígado. Os resultados sugerem que, hipertensão portal isolada pode não ser o fator maior no desenvolvimento de infecções espontâneas em cirrose e que outro mecanismo, como um sistema imune defeituoso, pode ser mais importante (50).

Guo, Andersson, Ljungh, Wang e Bengmark em 1993, estudaram a cinética e mecanismos da translocação bacteriana em ratos, após implantação intraperitoneal de drenos de diferentes tamanhos, seguidos pela avaliação da permeabilidade da mucosa ileal e extração do oxigênio intestinal por vários períodos de tempo. Verificaram que, as bactérias entéricas translocaram para nódulos linfáticos mesentéricos e disseminaram-se para órgãos sistêmicos, veia porta, veia cava inferior e cavidade peritoneal. Concluíram que, a translocação bacteriana ocorreu já no período inicial após implantação intraperitoneal destes e aumentou com o tempo. A extração de oxigênio intestinal aumentada, implica que o intestino é suscetível ao estímulo inflamatório intraperitoneal, e a permeabilidade ileal aumentada, sugere que a integridade do trato gastrintestinal é comprometida, o que poderia facilitar a translocação bacteriana (55).

Sorell, Quigley, Jin, Johnson e Rikkers em 1993, avaliaram em ratos se a hipertensão portal por si ou em associação com choque hemorrágico agudo, predispõe a translocação bacteriana através do intestino. Observaram translocação para nódulos linfáticos mesentéricos nos grupos de hipertensão portal, falsa operação e controle (411.5 ± 119 , 151.1 ± 42.6 e 18.1 ± 12.6 Unidades Formadoras de Colônias por grama) (UFC/g) e para sangue (100%, 30% e 0%) respectivamente. Os animais com hipertensão portal quando associados ao choque hemorrágico demonstraram 1018.2 ± 372.2 UFG/g. Concluíram que, a hipertensão portal promove translocação bacteriana especialmente em relação à hemorragia aguda (98).

Tarpila, Nyström, Franzén e Ihse em 1993, verificaram se a pancreatite induzida por bile poderia ou não, causar translocação bacteriana em ratos. Observaram translocação para nódulos linfáticos mesentéricos em todos os sobreviventes do grupo experimental (9/12), enquanto que no sangue e líquido peritoneal, esteve presente em 5 e 7 ratos respectivamente. *Escherichia coli* foi o microrganismo comumente isolado e os animais apresentaram aumento do número de bactérias aeróbias e anaeróbias no ceco e íleo. Concluíram que pancreatite aguda em ratos, causa colonização bacteriana sistêmica,

provavelmente como resultado de translocação bacteriana, a qual pode ser o mecanismo de infecção pancreática (106).

Llovet, Bartolí, Planas, Cabré, Jimenez, Urban, Ojanguren, Arnal e Gassull em 1994, objetivaram correlacionar translocação bacteriana com ascite infectada em ratos cirróticos. Líquido ascítico, sangue periférico e portal, nódulos linfáticos mesentéricos, fígado e baço foram avaliados em grupos com menos e mais de 250 PMN no líquido ascítico. Verificaram que a translocação bacteriana ocorreu em 45% de ambos grupos avaliados. O estudo histológico revelou edema da submucosa cecal, linfangiectasia ileal e infiltrado inflamatório cecal. Estes resultados sugerem que, a translocação bacteriana ocorre frequentemente em ratos cirróticos ascíticos e pode representar uma permissão, mas não única, como parte de um número de ascites infectadas (71).

Sedman, MacFie, Sagar, Mitchell, May, Mancey-Jones e Johnstone em 1994, estudaram uma série consecutiva de 267 pacientes através da análise bacteriana da serosa intestinal e nódulos linfáticos mesentéricos coletados no ato cirúrgico. Translocação bacteriana ocorreu em 10,3% dos pacientes e tanto bactérias aeróbias quanto anaeróbias translocaram. Excluindo pacientes com oclusão intestinal distal e aqueles com doença intestinal inflamatória nos quais translocação bacteriana foi mais comum, a prevalência foi de 5%. O desenvolvimento de complicações sépticas pós-operatórias foi duas vezes mais comum nos pacientes em que a translocação ocorreu e a mortalidade não foi afetada. Concluíram que, a translocação bacteriana ocorreu como um evento espontâneo em humanos, mas este significado clínico permanece para ser definido (94).

Eleftheriadis, Kotzampassi, Papanotas, Heliadis e Sarris em 1996, propuseram determinar se o aumento da pressão intra-abdominal devido a insuflação de gás carbônico, conduziria a isquemia intestinal devido a produção de radicais livres de oxigênio e consequente translocação bacteriana em ratos. Observaram a microcirculação da mucosa jejunal significativamente diminuída, assim como a atividade metabólica do intestino, e as concentrações de radicais livres de oxigênio foram aumentadas na mucosa intestinal, fígado, baço e pulmão. A translocação bacteriana para nódulos linfáticos mesentéricos, baço e fígado foi aumentada 3 horas após desinsuflação do pneumoperitônio e 18 horas após somente no fígado e baço. Concluiu-se que, a pressão intra-abdominal

elevada em ratos conduz à isquemia intestinal, produção de radicais livres de oxigênio e translocação bacteriana. Estes resultados podem ser reproduzidos em humanos e sua significância clínica esclarecida (43).

Gennari e Alexander em 1996, estudaram os efeitos da hiperoxigenação na translocação bacteriana durante sepse de origem intestinal. Foram utilizados camundongos para o experimento, aos quais administrou-se *Escherichia coli* e submetidos a 20% de dano térmico. Demonstraram que, a hiperoxigenação preservou a morfologia e a função de barreira intestinal, diminuindo a incidência de translocação bacteriana. Concluíram que a pressão de oxigênio tecidual pode ser um importante regulador da função de barreira intestinal, e a hiperoxigenação parece desempenhar um papel maior na preservação da função de barreira intestinal (52).

4. Material e Método

4. Material e Método

4.1 Delineamento Experimental

Este estudo experimental foi realizado nas dependências do laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná, as dosagens bioquímicas foram executadas no Laboratório Alfa (Hospital Evangélico de Curitiba) e as análises estatísticas no Laboratório de Estatística (Universidade Federal do Paraná).

Foram adotadas as Normas para Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná (1995) ⁽¹⁰⁷⁾, Princípios Éticos da Experimentação Animal (1995), bem como Manejo e uso dos Animais de Laboratório ⁽⁸⁴⁾.

4.2 Amostra

4.2.1 Animais Estudados

Foram utilizados 70 ratos albinos machos, (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar-TECPAR, com peso entre 212 a 257gramas (g).

4.2.1.1 Organização e grupos de animais

Foram distribuídos em 6 grupos. Grupos A, B, C, D e E - ascite induzida: com 50 animais nos quais se procedeu inoculação intraperitoneal de células tumorais; Grupo F - controle: com 20 ratos, se procedeu inoculação intraperitoneal de solução fisiológica (0,9% de Cloreto de Sódio) (NaCl).

Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos: Subgrupo para avaliação bacteriológica, composto de 5 ratos de cada um destes, e Subgrupo para avaliação da permeabilidade vascular intestinal, peritoneal e mesentérica com os outros 5 ratos, seguindo os períodos pré-estabelecidos para o sacrifício, 5º (A), 6º (B), 7º (C), 8º (D) e 9º (E) dias respectivamente, períodos estes nos quais foram coletadas amostras de tecidos, líquido ascítico e sangue para posterior aferição. O grupo F foi utilizado para estabelecer valores de referência no 9º dia e subdividiu-se em 2 subgrupos: para avaliação bacteriológica com 10 ratos, e avaliação da permeabilidade também com 10 ratos.

Os animais foram distribuídos em caixas com 5 ratos, permanecendo durante todo o experimento alojados no laboratório em temperatura ambiente, tendo livre acesso à ração balanceada para espécie, Nuvital[®], e água até a data do sacrifício.

Todos os ratos foram pesados em balança eletrônica, HELMAC HM[®] 3600, e registrados os valores antes do período pré-determinado para o sacrifício.

4.2.2 Sacrifício e coleta de amostras

Para as coletas de amostras, seguiram-se as seguintes etapas:

- Anestesia por inalação de éter sulfúrico, empregada para proceder punção intracardiaca e coleta de sangue para hemocultura e dosagens bioquímicas. O animal anestesiado era colocado em decúbito-dorsal, e procedia-se anti-sepsia local com álcool-iodado.
- Sacrifício por inalação letal com éter sulfúrico após a coleta de sangue, era executada laparotomia mediana xifo-púbica, e coletadas sob estritas condições de assepsia, amostras de líquido ascítico, que era imediatamente separada em dois frascos esterilizados, uma amostra de 5 mililitros (ml) era destinada aos exames bacteriológicos e em outra, após centrifugação a 3000 rotações por minuto, eram procedidas as determinações bioquímicas. Simultaneamente, procedia-se à coleta de órgãos para exames bacteriológicos, sendo empregados conjuntos separados de pinças e tesouras previamente esterilizados. Imediatamente estas amostras eram semeadas nos meios descritos nos itens 4.7.2.1 e 4.7.2.2. Por último, coletavam-se as amostras para determinação da permeabilidade vascular nos animais destinados para este teste.

4.2.3 Linhagem tumoral estudada

Foi utilizada a linhagem tumoral Sarcoma 180, proveniente do Instituto de Oncologia Angel Roffo, Buenos-Aires, Argentina.

4.3 Indução do processo tumoral

4.3.1 Preparo do inóculo tumoral

Esta linhagem foi mantida por sucessivas passagens por via intraperitoneal de camundongos CF1, a cada 7 dias, com coleta de líquido ascítico que continha células tumorais que serviam de inóculo para a seguinte inoculação. Por ser uma linhagem originalmente de camundongos, foi recentemente adaptada para ratos, após 35 passagens intermediárias deste tumor em camundongos da linhagem NUDE, uma a cada 5 dias, até que as células tumorais obtidas fossem capazes de desenvolver ascite em ratos ⁽⁶⁸⁾.

4.3.1.1 Contagem total de células tumorais

Procedida em contador automático de células ABBOT CELL DYN 1.4000.

4.3.1.2 Contagem de células tumorais viáveis

Conforme utilizado por KIST em 1995 ⁽⁶⁸⁾, empregou-se o corante vital Azul de Tripán (MERCK®), na concentração de 0,4%, em solução salina fisiológica com Fosfato de Potássio monobásico (REAGEN®) 5 milimoles (mM), NaCl 140 mM (MERCK®) e 25 miligramas de Ácido Benzóico (REAGEN®) como preservativo. O potencial hidrogeniônico (pH) foi ajustado para 7,4. Para cada ml de suspensão celular, foi utilizado 0,1 ml de corante. A porcentagem de células viáveis foi determinada para inoculação destas e controlada em todos os períodos de avaliação, por contagem em câmara de Neubauer em microscópio óptico comum (NIKON®), sendo a porcentagem de células viáveis, calculada usando-se a relação:

$$\text{Porcentagem de células viáveis} = \frac{\text{células coradas}}{\text{células coradas} + \text{não coradas}} \times 100$$

4.3.1.3 Teste de Esterilidade Bacteriana e Fúngica

Foram utilizados os meios de cultura recomendados pela United States Pharmacopeia XXI (USP XXI) ⁽⁸²⁾, o Caldo Tioglicolato de Sódio (BIOBRÁS[®]) em tubos de ensaio 20 x 20 milímetros (mm), com 15 ml de meio e o Caldo Tripticaseína de Soja (BIOBRÁS[®]) em tubos de ensaio 20 x 20 mm, com também 15 ml de meio. Em ambos os meios, o inóculo foi de 1 ml e incubados em distintas faixas de temperatura. Para a pesquisa de contaminantes bacterianos, os tubos foram incubados em estufa a 37 graus Celsius (°C), e para a pesquisa de contaminantes fúngicos a 22 °C durante 14 dias. Após o período de incubação, a inexistência de crescimento microbiano indicava a ausência de contaminantes na amostra semeada.

4.3.2 Inoculação da suspensão de células tumorais

Os animais foram anestesiados, por inalação de éter sulfúrico. Com o animal em posição de decúbito dorsal, procedeu-se à anti-sepsia local da superfície abdominal com álcool-iodado, e inoculação intraperitoneal de 5 ml de células tumorais viáveis nos quadrantes inferiores direito e esquerdo do animal, o que correspondia a 10×10^6 células tumorais viáveis em cada um dos ratos, segundo o método proposto por KIST em 1995 ⁽⁶⁸⁾.

4.4 Avaliação da permeabilidade vascular pelo Azul de Evans

Conforme descrito por Gregersen e colaboradores (1935) e utilizado por Bordon de Corvalán (1994) ⁽²⁰⁾, Hajar (1994) ⁽⁵⁶⁾ e Andriguetto (1995) ⁽⁸⁾, seguiram-se as seguintes etapas :

4.4.1 Preparação da solução de Azul de Evans

Foi preparada uma solução do Azul de Evans a 2,5% peso/volume, MERCK[®] artigo 3169 em solução fisiológica, num volume suficiente para todo o experimento. A solução resultante apresentava 20 miligramas por mililitro (mg/ml), era filtrada em membrana esterilizante de 0,22 microns MILLIPORE[®] e conservada em temperatura de 4 °C.

4.4.2 Inoculação

Foi realizada a inoculação do Azul de Evans em todos os animais dos subgrupos sob evolução tumoral e controle, 8 horas antes do sacrifício. O rato sob efeito anestésico de éter sulfúrico, foi colocado em decúbito dorsal. O pênis foi tracionado e a veia peniana puncionada com agulha 13 x 4,5 mm. A seguir foi injetada a solução do Azul de Evans na dose de 20 miligramas por quilograma (mg/kg) de peso.

4.4.3 Calibração do método

Tomou-se uma alíquota da solução do Azul de Evans a 2,5% (item 4.4.1), para padronização do método de microleitura espectrofotométrica.

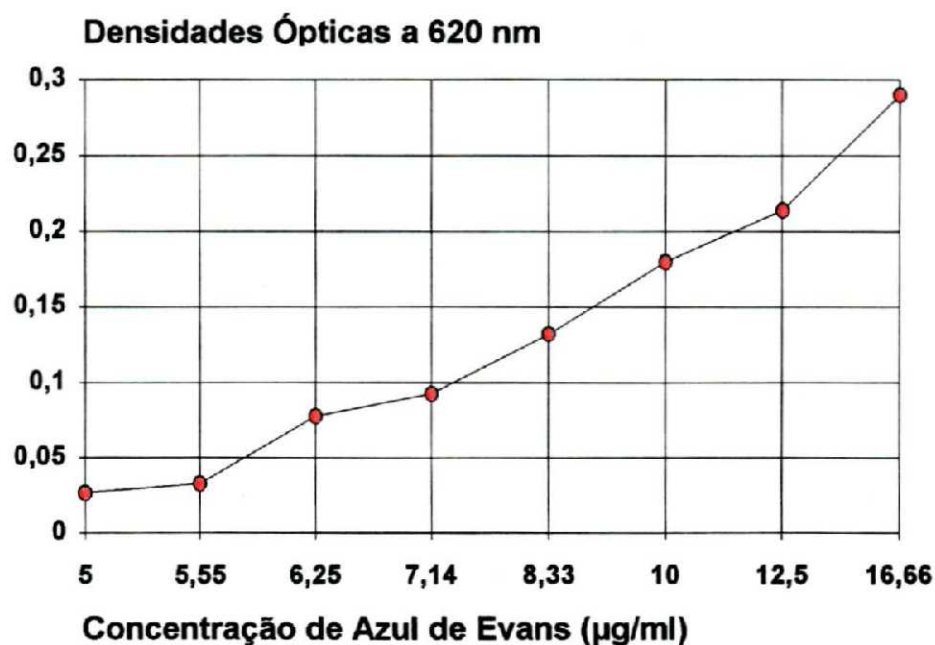
Nesta solução calculou-se o coeficiente de extinção à um filtro de 620 nm de comprimento de onda, frente a um branco de formamida, nas diluições compreendidas entre 1/1500 a 1/5000 utilizando leitor de micro-placas de ELISA - BIOTEK BT-100. Os valores de densidade óptica obtidos nas diluições da solução padrão do Azul de Evans em solução fisiológica em relação com as concentrações das mesmas foram analisadas e obteve-se índice de correlação (r) de 0,98424. Os valores apresentados na tabela 01 foram usados como referência.

Tabela 01 - Relação entre concentração do Azul de Evans da solução padrão e densidade óptica a 620 nm frente a solução fisiológica como branco:

Concentrações ($\mu\text{g/ml}$)	Densidade óptica
16,66	0,290
12,50	0,214
10,00	0,180
8,33	0,132
7,14	0,093
6,25	0,078
5,55	0,033
5,00	0,027

$\mu\text{g/ml}$ = micrograma por mililitro

Gráfico 01 - Calibração do Azul de Evans a 620 nm



4.4.4 Obtenção de amostras para dosagem de Azul de Evans

Procedeu-se à coleta das amostras de paredes intestinais, peritoneais e tecidos mesentéricos conforme descrito no item 4.2.2. Foram individualmente pesadas em balança eletrônica e colocadas em tubos de ensaio, acrescentando-se a estas FORMAMIDA MERCK® artigo 9684.1000 na proporção de 4 ml por grama de peso da amostra.

4.4.5 Extração e dosagem de Azul de Evans

Os extratos de Azul de Evans em formamida foram distribuídos em volumes de 150 microlitros com auxílio de uma pipeta automática GILSON®, em cada um dos orifícios da placa de Terazaki CORNING®, realizou-se leitura espectrofotométrica em leitor de ELISA com filtro de 620 nm de comprimento de onda. Foi utilizada formamida como branco para o teste.

As leituras obtidas foram interpoladas por regressão linear na curva de calibração da solução do Azul de Evans e suas concentrações nas amostras de paredes itestinais, peritoneais e tecido mesentérico foram expressadas em microgramas por grama (µg/g).

4.5 Dosagens bioquímicas em soro e ascite

Para as dosagens bioquímicas, as amostras de soro e ascite foram coletadas conforme descrição no item 4.2.2 e imediatamente processadas.

4.5.1 Dosagem de Proteínas Totais e Albumina

Utilizou-se o método automatizado COBAS MIRA[®] com reativos específicos.

4.5.2 Gradiente de Albumina Soro-Ascite

Procedeu-se ao cálculo do gradiente que consistiu na diferença entre as dosagens de albumina sérica e ascítica.

4.5.3 Dosagem de Sódio e Potássio

Utilizou-se sistema automatizado por eletrodos específicos (ISE) em leitor AVL[®] modelo 9130.

4.6 Contagem de Leucócitos

Amostras de sangue foram submetidas à contagem total dos leucócitos pelo método automatizado Coulter Counter[®].

4.7 Avaliação da Translocação Bacteriana

4.7.1 Obtenção de amostras

Conforme descrito no item 4.2.2, procedia-se a exposição da arcada mesentérica e exposição de linfonodos mesentéricos, os quais eram removidos separadamente e colocados em placas de Petri esterilizadas, em seguida, o mesmo procedimento era utilizado para baço, fígado, rins e pulmões.

4.7.2 Meios de Cultura empregados

4.7.2.1 Meios empregados para isolamento de *Escherichia coli*

Foi empregado como meio seletivo e indicador o Caldo Lactosado com indicador de pH - Vermelho de Metila. Após incubação e viragem de pH, utilizou-se Agar Eosina Azul de Metileno Teague - BIOBRÁS[®]) para seleção de colônias lactose-positivas que eram evidenciadas pelas pela coloração verde-metálica, típica

de *Escherichia coli* neste meio de cultivo. Estas colônias eram então repicadas para o meio de Pessoa e Silva para identificação final.

4.7.2.2 Meios empregados para identificação de *Enterococcus faecalis*

Utilizou-se o Kenner Fecal Streptococcus Agar (DIFCO®) suplementado com Cloreto de Trifeniltetrazolium (MERCK® artigo 12.340)

4.7.3 Cultivo e Isolamento de bactérias

As amostras foram incubadas a 37 °C por 48 horas, sendo a seguir selecionadas as culturas positivas e repicadas em meios para seleção primária de colônias e novamente incubadas a 37 °C por 24 horas. Desta forma as culturas positivas em Caldo Lactosado foram repicadas para Agar Eosina Azul de Metileno e as culturas positivas em Kenner Fecal Streptococcus foram repicadas para Caldo Simples. As amostras que não demonstraram crescimento nas primeiras 48 horas, eram reincubadas até o 7º dia para comprovação da negatividade.

Ao término das incubações as colônias típicas de *Escherichia coli* no meio de Eosina Azul de Metileno, foram repicadas para o meio de Pessoa e Silva para identificação final e as amostras crescidas em Caldo Simples foram submetidas à prova da catalase para caracterização do gênero *Enterococcus* e posteriormente à hidrólise da esculina, sendo assim caracterizadas as amostras de *Enterococcus faecalis*.

4.8 Avaliação Estatística

Empregou-se análise estatística não paramétrica, pelo método de Kruskal-Wallis, em sistema computadorizado e definiu-se como nível de significância estatística $p < 0,05$ para rejeição de hipóteses nulas.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

No período de pós-indução tumoral, os animais foram avaliados por observações clínicas diárias, não ocorreram intercorrências ou óbitos, apresentavam manutenção do estado geral, atividade física e disposição para alimentarem-se. A ascite tornou-se clinicamente evidente a partir do quinto dia da inoculação do Sarcoma 180, tornando-se mais significativo nos dias subsequentes. As médias ponderais de cada um dos grupos A, B, C, D e E, no dia do sacrifício não apresentaram diferenças significantes em relação ao grupo F ($p=0,723$), conforme demonstrado na Tabela 02.

Tabela 02 - Comparação entre as médias ponderais dos animais sob evolução ascítica tumoral e controles :

Grupos	I.V.	Pesos (g)
A (n=10) 5º dia	L.S.	244,63
	M	229,60
	L.I.	214,56
B (n=10) 6º dia	L.S.	239,63
	M	224,60
	L.I.	209,56
C (n=10) 7º dia	L.S.	250,03
	M	235,00
	L.I.	219,96
D (n=10) 8º dia	L.S.	248,63
	M	233,60
	L.I.	218,56
E (n=10) 9º dia	L.S.	249,63
	M	234,60
	L.I.	219,56
F (n=20) Controle	L.S.	257,00
	M	234,50
	L.I.	212,00

I.V.: Intervalos de Variações 95% Tukey

L.S.: Limite Superior, M : Médio, L.I.: Limite Inferior

Na Tabela 03 os resultados são apresentados em porcentagem de isolamentos bacterianos nos animais estudados em cada um dos grupos. Observe-se que as hemoculturas não apresentaram crescimento bacteriano nas amostras de sangue dos animais sob evolução tumoral bem como nos animais controles. Nas amostras de fígado, baço, rins, pulmões, linfonodos mesentéricos e ascites coletadas no 7º, 8º e 9º dias pós-inoculação, foram isoladas as bactérias indicadoras de contaminação enteral, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*, não sendo observado crescimento nas mesmas amostras coletadas no grupo F.

Tabela 03 - Avaliações bacteriológicas:

Grupo	Amostras Avaliadas						
	Sangue	Ascite	Fígado	Baço	Rins	Pulmões	LNM
A (n=5) 5º dia	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -
B (n=5) 6º dia	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -
C (n=5) 7º dia	100% -	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +
D (n=5) 8º dia	100% -	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +
E (n=5) 9º dia	100% -	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +	100% +
F (n=10) Controle	100% -	não se aplica*	100% -	100% -	100% -	100% -	100% -

Legenda : LNM : Linfonodos Mesentéricos
n = número
+ = presença de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*
- = cultura negativa até o 7º dia de incubação
* grupo controle sem indução de ascite

Para inferência estatística das diferenças entre as médias das dosagens de albumina, proteínas totais, íons Sódio, íons Potássio, contagem de leucócitos, determinação de gradiente de albumina soro-ascite, foram inicialmente comparadas as médias destas determinações de cada um dos grupos sob evolução tumoral e comparadas às médias do grupo controle, posteriormente compararam-se as médias globais de cada determinação em todos os grupos em vigência de ascite tumoral, com as do grupo controle. A Tabela 04 demonstra os resultados expressados por médias dos grupos e seus intervalos de variações obtidos pelo método de Tukey com 95% de confiança.

Tabela 04 - Demonstrativo entre as avaliações bioquímicas em soro e ascite e contagem de leucócitos no sangue :

Grupo	I.V.	Amostras Avaliadas								
		Soro				Sangue	Ascite			
		Alb.	P.T.	Na	K	Leuc	Alb.	P.T.	Na	K
A (n=5) 5º dia	L.S.	3,20	5,95	131,62	9,20	2.730	2,75	4,20	125,39	10,97
	M	3,00	5,50	126,80	8,30	2.440	2,56	3,96	119,40	9,20
	L.I.	2,79	5,04	121,97	7,39	2.149	2,36	3,71	113,40	7,42
B (n=5) 6º dia	L.S.	2,88	4,51	123,22	8,80	2.890	2,83	4,42	123,99	8,73
	M	2,68	4,06	118,40	7,90	2.600	2,64	4,18	118,00	6,96
	L.I.	2,47	3,61	113,57	6,99	2.309	2,44	3,93	112,00	5,18
C (n=5) 7º dia	L.S.	2,80	4,15	127,02	11,10	1.858	3,11	5,52	125,79	5,18
	M	2,60	3,70	122,20	10,20	1.568	2,92	5,28	119,80	10,18
	L.I.	2,39	3,25	117,37	9,29	1.277	2,72	5,03	113,80	8,40
D (n=5) 8º dia	L.S.	3,24	5,89	146,82	5,32	1.752	2,95	4,26	145,79	6,91
	M	3,04	5,40	142,00	4,42	1.462	2,76	4,02	139,80	5,14
	L.I.	2,83	4,91	137,17	3,51	1.171	2,56	3,77	133,80	3,36
E (n=5) 9º dia	L.S.	3,52	6,73	149,82	5,40	986	3,56	5,73	154,97	8,11
	M	3,32	6,28	145,00	4,50	696	3,25	5,35	145,50	5,30
	L.I.	3,11	5,83	140,17	3,59	405	2,93	4,96	136,02	2,48
F (n=10) Controle	L.S.	3,90	9,10	193,00	7,2	9.030	não se aplica*			
	M	3,35	6,11	144,95	3,83	7.460				
	L.I.	2,90	5,60	140,00	3,20	5.500				

Legenda : I.V.: Intervalos de Variações 95% Tukey
 L.S.: Limite Superior, M : Médio, L.I.: Limite Inferior
 Alb: albumina (mg/ml), P.T.: proteínas totais (mg/ml),
 Na: Íons Sódio - miliequivalentes por mililitro (mEq/ml), K: Íons Potássio (mEq/ml),
 Leuc.:Leucócitos (/ml)
 * grupo controle sem indução ascítica

Nas determinações bioquímicas dos animais sob evolução tumoral acima demonstradas, observa-se em relação aos valores obtidos no grupo controle : diminuição significativa nos valores médios de proteínas totais e albumina, elevação do potássio e diminuição dos níveis de sódio séricos. Com respeito às determinações em ascites, e por não haver parâmetros de referência para comparação, observa-se presença de gradiente de albumina soro-ascite invertido apenas no sétimo dia de evolução, nos demais esta relação ocorreu sem alterações, ainda neste mesmo período de evolução tumoral, ocorreu elevação significativa de potássio ascítico. As contagens totais de leucócitos circulantes demonstraram diminuição sequencial. Os valores de referência encontrados estão em acordo àqueles especificados para a linhagem Wistar, conforme informação da fonte provedora destes (Instituto de Tecnologia do Paraná).

Tabela 05 - Comparação entre as avaliações da permeabilidade vascular nos animais sob evolução ascítica tumoral e controles :

Grupos	I.V.	Amostras Avaliadas (μg de Azul de Evans/g de tecido)		
		Parede Intestinal	Parede Peritoneal	Tecido Mesentérico
(n=5) 5° dia	L.S.	41,05	24,03	38,06
	M	38,50	22,57	35,04
	L.I.	36,02	21,11	32,02
B (n=5) 6° dia	L.S.	40,90	23,93	37,44
	M	38,87	22,20	33,82
	L.I.	34,85	20,47	30,20
C (n=5) 7° dia	L.S.	43,03	27,83	39,54
	M	40,54	25,43	37,12
	L.I.	38,05	23,03	34,70
D (n=5) 8° dia	L.S.	39,90	25,80	38,91
	M	39,00	23,56	36,47
	L.I.	37,10	21,32	34,03
E (n=5) 9° dia	L.S.	40,44	26,02	41,05
	M	39,37	23,21	40,04
	L.I.	38,30	20,40	39,03
F (n=10) Controle	L.S.	28,50	17,20	27,32
	M	27,40	15,40	26,36
	L.I.	26,31	13,60	25,40

Legenda : I.V.: Intervalos de Variações 95% Tukey
L.S.: Limite Superior, M : Médio, L.I.: Limite Inferior

As determinações da permeabilidade vascular, obtidas pelas dosagens espectrofotométricas do Azul de Evans nas amostras de paredes intestinal e peritoneal e tecido mesentérico dos animais tumorizados, demonstraram aumento ($p < 0,05$) em relação aos valores de referência estabelecidos no grupo controle. Ênfase deve ser dada ao aumento ocorrido nas amostras coletadas no sétimo dia.

Tabela 06 - Demonstrativo dos parâmetros estatísticos avaliados :

Elemento de Comparação	Comparação entre	Valor de p	Conclusão
Proteínas Totais	Dosagens séricas nos animais induzidos com animais controle	0,00098	Diferenças estatisticamente significantes
	Dosagens ascíticas entre os grupos induzidos	$p < 0,05$	Diferenças significantes entre : A - C, A - E, B - C, B - E, C - D, D - E
Albumina	Dosagens séricas nos animais induzidos com animais controle	0,0016	Diferenças estatisticamente significantes
	Dosagens ascíticas entre os grupos induzidos	$p < 0,05$	Diferenças significantes entre : A - E, B - E
Íons Sódio	Dosagens séricas nos animais induzidos com animais controle	0,00078	Diferenças estatisticamente significantes
	Dosagens ascíticas entre os grupos induzidos	$p < 0,05$	Diferenças significantes entre A - D, A - E, B - D, B - E
Íons Potássio	Dosagens séricas nos animais induzidos com animais controle	0,00042	Diferenças estatisticamente significantes
	Dosagens ascíticas entre os grupos induzidos	$p < 0,05$	Diferenças significantes entre A - D, B - D, C - E
Leucócitos	Contagem de Leucócitos no sangue	$p < 0,05$	Diferenças significantes entre A - C, A - D, A - E, B - C, B - D, B - E, C - E, D - E
Permeabilidade Vascular	Dosagens teciduais de Azul de Evans entre os grupos induzidos e grupo controle	$p < 0,05$	Diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de paredes intestinal e peritoneal e tecido mesentérico

Quadro 01 - Demonstrativo das avaliações de translocação bacteriana, valores médios das dosagens bioquímicas ascíticas e séricas, permeabilidade vascular intestinal, peritoneal e mesentérica, contagem de leucócitos e gradiente de albumina soro-ascite nos grupos induzidos com Sarcoma 180 e grupo controle :

<u>Translocação Bacteriana</u>	neg	neg	100%	100%	100%	neg
<u>Proteínas Totais em mg/ml</u>						
• Soro	5,50	4,06	3,70	5,44	6,28	6,11
• Ascite	3,96	4,18	5,28	4,02	5,35	—
<u>Albumina em mg/ml</u>						
• Soro	3,00	2,68	2,60	3,04	3,32	3,35
• Ascite	2,56	2,64	2,92	2,76	3,25	—
<u>Sódio em mEq/ml</u>						
• Soro	126,8	118,4	122,2	142,0	145,0	144,9
• Ascite	119,4	118,0	119,8	139,8	145,5	—
<u>Potássio em mEq/ml</u>						
• Soro	8,30	7,90	10,2	4,42	4,50	3,83
• Ascite	9,20	6,96	10,1	5,14	5,30	—
<u>Permeabilidade Vascular em µg/g</u>						
• Intestino	38,50	38,87	40,54	39,00	39,37	27,40
• Peritônio	22,57	22,20	25,43	23,56	23,21	15,40
• Mesentério	35,04	33,82	37,12	36,47	40,04	26,36
<u>Leucócitos/ml</u>	2440	2600	1580	1462	696	7460
<u>Gradiente</u>	aus.	aus.	Pres	aus.	aus.	
<u>Grupos</u>	induzido	induzido	induzido	induzido	induzido	controle
	5º dia	6º dia	7º dia	8º dia	9º dia	

Legenda : aus.: ausência de gradiente albumina soro-ascite
 pres: presença de gradiente albumina soro-ascite
 neg: negativo

6. Discussão

6. Discussão

O rato (*Rattus norvegicus*) foi o animal escolhido para o estudo por ser de obtenção acessível e possível alojá-lo em ambientes laboratoriais para o desenvolvimento de estudo experimental controlado. Por seu porte, pode-se dispô-lo de quantidades estatisticamente adequadas, sem que por isto, haja comprometimento ambiental.

O modelo experimental proposto dá seguimento à linha de estudos já consolidada, cujo objetivo é o estudo e aplicação do Sarcoma 180 como modelo biológico de indução tumoral aplicado à investigação da evolução ascítica por ele induzida, relacionando avaliações bioquímicas séricas, ascíticas, leucocitárias e da permeabilidade vascular à translocação de bactérias enterais normais da flora murina.

O Sarcoma 180 adaptado para ratos, foi apresentado por Kist em 1995 e comprovada sua acelerada capacidade ascitogênica nestes animais ⁽⁶⁸⁾, gerando desta forma, o modelo ora proposto. A evolução da ascite tornou-se clinicamente evidente a partir do 5º dia da inoculação intraperitoneal das células tumorais, portanto, as aferições foram procedidas nos dias sucessivos de evolução.

Seguem sendo obscuras, as prováveis hipóteses elaboradas para a elucidação dos diversos mecanismos implicados na formação de ascites, como consequência também de um contínuo processo maligno. No entanto, algumas considerações foram elaboradas no sentido de esclarecê-las. Starling em 1896, citado por Sherlock em 1978, pressupôs em seu estudo, como mecanismo fisiopatológico da ascite, o intercâmbio de fluidos entre o sangue e os espaços teciduais, induzido pela diferença entre a pressão hidrostática capilar, determinando filtração, e a pressão osmótica das proteínas plasmáticas, que favoreceria a reabsorção dos líquidos ⁽⁹⁷⁾. Outros autores, condicionaram a ascite como consequência da ação local de células cancerosas causando irritação serosa ⁽⁶¹⁾, obliteração dos linfáticos diafragmáticos ⁽⁴⁶⁾, angiogênese ⁽⁵⁷⁾, hipertensão portal ⁽⁸⁷⁾ e aumento da permeabilidade vascular ^(45,51,59,96).

Entre estas, Heuser, Taylor e Folkman em 1984, demonstraram que o sulfato de protamina, conhecido inibidor da angiogênese, quando topicamente infundido na cavidade peritoneal de animais portadores de tumor, preveniu sua proliferação

difusa, entretanto, as coleções ascíticas seguiram sendo formadas. Relataram que alguns tumores poderiam produzir fatores que alterariam a permeabilidade macromolecular de vasos normais, causando acúmulo de líquido dentro do abdome (58).

A permeabilidade vascular aumentada foi relatada por Fastaia e Dumont em 1976, pois verificaram alterações na permeabilidade capilar peritoneal empregando o Azul de Evans como marcador. Observaram que a média de permeabilidade aumentou em relação aos valores de referência por eles estandardizados, uma vez e meia ao 3º dia, 2 vezes ao 5º dia, e 3 vezes ao 7º dia após inoculação de células tumorais. Concluíram que a causa do progressivo aumento na permeabilidade capilar, foi provavelmente a alteração na efusão intraperitoneal (45). Por outro lado, Garrison, Kaelin, Galloway e Heuser em 1986, verificaram aumento da permeabilidade vascular para proteínas no omento, após a inoculação intraperitoneal de líquido ascítico livre de células malignas. Serviram-se igualmente do Azul de Evans para esta medição e concluíram que alterações no extravasamento de proteínas explica a formação de ascites por alguns tumores na ausência de obstrução tumoral (51).

Avaliou-se neste estudo, a permeabilidade vascular decorrente do processo tumoral induzido pelo Sarcoma 180, valendo-se das propriedades do Azul de Evans, também estudadas, por Bordon de Corvalán e Hajar em 1994, e Andriquetto em 1995, os quais, reafirmaram a capacidade deste corante em combinar-se com a albumina sérica e portanto, ser um marcador de exsudação tecidual (20,56,8). Esta avaliação em paredes peritoneal e intestinal e tecido mesentérico, esteve aumentada em relação ao grupo controle no 5º dia de evolução tumoral e persistiu em todos os seguintes avaliados, o que comprova o efeito do Sarcoma 180 na permeabilidade vascular e que provavelmente seja a causa mais relacionada a ascitogênese.

O aumento da pressão intra-abdominal pela ascite, dificulta a absorção de nutrientes, o que provoca deficiência protéica de base nutritiva com características de debilidade muscular e conseqüente alteração do peso dos animais. No modelo proposto, não demonstrou-se variação ponderal significativa nos animais inoculados com tumor em relação aos do controle, devido à própria ascite em formação compensar esta perda.

As dosagens de proteínas totais no soro demonstraram diminuição estatisticamente significativa nos ratos que se apresentavam com evolução tumoral, comparadas ao grupo controle. No entanto, os níveis de proteínas séricas podem sofrer queda se considerar a retenção de sal e água no rim, que dilui o componente coloidal do espaço extracelular, e ainda o fato de que, parte das proteínas circulantes são sequestradas no líquido ascítico, além do hipermetabolismo tumoral (97).

O gradiente de concentração de albumina soro-ascite, tem sido relatado para relacionar a evolução ascítica (81). Neste estudo experimental, ocorreu inversão do gradiente de albumina soro-ascite somente no grupo C, nos demais grupos as determinações séricas da albumina apresentaram-se superiores às determinações ascíticas. Este gradiente presente coincidiu com o início da translocação bacteriana (7º dia), o que talvez seja um fator tributário, mas não único para a passagem de bactérias. O fato deste gradiente não estar presente nos demais dias avaliados, deve-se ao próprio reequilíbrio soro-ascite, consequente às trocas protéicas.

Com evolução progressiva de ascite, os fluidos corporais tornam-se depletados de íons e os túbulos renais passam a reter água e íons sódio. Como consequência, o aparelho justaglomerular e o sistema renina-angiotensina estimulam a produção de aldosterona, para aumentar a absorção deste íon (26). Existem outras alterações de ordem sistêmica na vigência de ascite cujos mecanismos são discutíveis pois, diversos sistemas vasoativos parecem interagir no rim, a ascite se acumula com balanço sódico positivo e diminui durante o balanço negativo, ao passo que o potássio intracelular, suscetível de ser trocado, está diminuído (97). Neste modelo estudado, as concentrações de sódio demonstraram ser maiores no soro em relação à ascite, enquanto que o potássio sérico, demonstrou esta relação inversa. O fato desta diminuição sérica do potássio não se deve apenas à perda excessiva do íon para o líquido ascítico, mas também, a incapacidade celular em manter seu conteúdo causando depleção celular e redução da massa muscular total que geralmente acompanham o tumor.

Sendo considerada a leucopenia importante fator de risco para infecções por enterobactérias translocadas (92), avaliou-se também neste estudo os efeitos da evolução do Sarcoma 180 na população leucocitária circulante nos animais. Observou-se significativa diferença entre as contagens de leucócitos nas amostras

de ratos tumorizados e os controles, fato este intrinsecamente associado à ocorrência de translocação.

O intestino devido à sua flora microbiana diversificada, ocupa importante posição na pesquisa cirúrgica, e vem tornando-se área de intensa investigação. A translocação de bactérias e endotoxinas é postulada como parte do mecanismo fisiológico de processamento e apresentação antigênica, sendo parte essencial da resposta imune dos tecidos. O cenário pode ser muito diferente em pacientes imunocomprometidos ou naqueles portadores de outros estados críticos, cujo nível fisiológico de translocação, pode ser suficiente para o desenvolvimento de infecção sistêmica. Da magnitude da translocação depende a ocorrência de infecções, choque séptico e SIRS (3,32).

O intestino atende fisiologicamente distintas funções como: digestão, absorção, secreção e atua como barreira, cuja mucosa permite a passagem seletiva de nutrientes para a circulação, enquanto mantém-se como proteção contra a absorção de partículas luminiais e substâncias, como bactérias e suas toxinas (120). A função imune intestinal, foi primariamente observada por Besredka em 1919, que descreve a inibição da aderência de patógenos luminiais na superfície celular, como passo inicial na prevenção da invasão de células da superfície epitelial (19), e é normalmente impedida por mecanismos de defesa específicos, como a secreção de IgA (21,28) e não específicos, como acidez gástrica, peristalse, muco, antagonismo bacteriano e descamação tecidual. Acrescidos a estes, as bactérias anaeróbias formam uma camada na superfície da mucosa, e sua presença tem sido relacionada à estabilidade e confinamento das bactérias aeróbias gram-negativas no trato intestinal (4). Apesar da população de bactérias anaeróbias ser maior que as aeróbias, aquelas como regra não translocam através do intestino normal, e se o fazem, atingem sistemas ricos em oxigênio que não permitem sua sobrevivência, ou são fagocitadas e tornam-se suscetíveis para morte intracelular (38). O estado nutricional do hospedeiro, tem sido demonstrado influenciar o ciclo de vida das células intestinais, sendo uma importante variável na translocação de bactérias gastrintestinais (1,106).

Pouco tem sido pesquisado em relação aos mecanismos pelos quais as bactérias presentes no lúmen intestinal alcançam os nódulos linfáticos mesentéricos e outros tecidos. No entanto, vários são propostos: a impermeabilidade das membranas celulares, a estreita junção entre as células

mucosas (44,111) e a hipótese do transporte fagocítico (25,69,80,116,117). Ainda, existem múltiplas vias descritas para a translocação bacteriana: migração retrógrada para pulmões, migração transmural direta através da parede intestinal e migração para linfonodos mesentéricos e/ou fígado através das vias linfática ou vascular, e a concomitância de mais de uma destas vias poderá ocorrer (114,118).

É de conhecimento que o trato gastrintestinal de roedores normais contém centenas de diferentes espécies de bactérias, no entanto, poucas espécies são observadas na translocação para nódulos linfáticos mesentéricos e outros órgãos. Incluem-se entre estas, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Stafilococcus* sp. e *Lactobacilos*. Outros microrganismos, tais como, *Pseudomonas*, anaeróbios e leveduras translocam, mas parecem fazer somente sob circunstâncias não usuais (118). As espécies observadas em estudos anteriores como tipos dominantes na translocação, por serem aceitos como indicadores de contaminação de flora cecal, são a *Escherichia coli* e o *Enterococcus faecalis*, este anteriormente denominado *Streptococcus faecalis* (18). Observou-se neste estudo suas translocações em 100% dos nódulos linfáticos mesentéricos, fígado, baço, rins, pulmões e líquido ascítico coletados, em todos os ratos a partir do 7º dia (Grupo C) de evolução tumoral. A porcentagem de bactérias encontradas, deve-se a uma análise qualitativa das bactérias, pois define-se como translocação quando apenas uma bactéria esteja presente em nódulo linfático mesentérico ou órgão extra-intestinal (113). Acredita-se que com a permeabilidade vascular aumentada a partir do 5º dia de evolução tumoral, às bactérias entéricas já estão translocando através da parede intestinal em direção aos nódulos linfáticos mesentéricos, mas são destruídas neste trajeto pelos mecanismos de defesa locais ou pelos próprios nódulos linfáticos mesentéricos que liquidam estas bactérias, e quando há uma menor atividade destes ocorre a presença de bactérias nestes com consequente passagem para locais extra-intestinais, o que foi evidenciado nesta pesquisa no 7º dia de evolução tumoral. O possível mecanismo da permeabilidade vascular aumentada na translocação bacteriana deve-se ao fato do aumento da permeabilidade romper as junções apertadas entre os enterócitos e possibilitar uma via intercelular para a passagem de bactérias oriundas da luz intestinal.

É reconhecido que os órgãos internos de ratos normais são considerados estéreis, entretanto com técnicas laboratoriais apropriadas, podem ser demonstrados que baixos números de bactérias gastrintestinais viáveis podem

estar presentes em aproximadamente 5,2% dos órgãos ⁽⁸¹⁾. Nesta avaliação, os animais do grupo controle não demonstraram bactérias em seus órgãos. Isto implica que, a translocação de bactérias gastrintestinais pode ser de ocorrência irregular e que quando translocadas, são eliminadas pelas defesas normais do hospedeiro.

Os resultados obtidos nas pesquisas bacteriológicas no sangue em ambos os grupos, controle e sob evolução tumoral, foram uniformemente negativas em todos os períodos de observação deste estudo, sugerindo que, bactérias podem ser absorvidas para a circulação sanguínea portal em pequenas quantidades, mas são rapidamente filtradas pelas células de Kupffer no sistema retículo-endotelial hepático, sendo este efetivo em limitar sua passagem para a circulação sanguínea ⁽⁷⁵⁾. Entretanto, hipoteticamente, se estas bactérias fossem continuamente disseminadas na circulação portal e pesquisadas por um período além do 9º dia após inoculação intraperitoneal das células tumorais, poderiam ser detectadas no sangue, indicando que neste período, o sistema retículo-endotelial tornou-se incapaz de limitar a população bacteriana translocando para o sangue, ou porque os fagócitos fixos tenham alcançado o limite de sua capacidade fagocítica, ou ainda alguns destes eliminaram bactérias viáveis para a corrente sanguínea.

Relata-se dos pacientes com ascites malignas, o desenvolvimento de sepse como evento pré-terminal associado ao estado geral de imunodepressão nestes pacientes debilitados. O fenômeno da translocação bacteriana pode estar envolvido neste processo, uma vez que, os microrganismos responsáveis por este estado são integrantes da flora aeróbia normal do intestino, e a cavidade peritoneal vistas à sua extensão e grande capacidade de armazenar líquido dificulta por razões físicas a fagocitose. Agrega-se ainda, a ocorrência da opsonização, processo este que envolve a superfície do microrganismo com imunoglobulina ou complemento, o que é fundamental à fagocitose, e no paciente com câncer, o índice opsônico do fluido ascítico é abaixo do normal estabelecido ^(13,27,63,113).

Baseados nos resultados do presente estudo, concluiu-se que a ascite induzida pelo tumor, promoveu translocação bacteriana nesta condição experimental. É possível que se deva ao efeito sinérgico de diversos fatores demonstrados no Quadro 01, que se manifestaram a partir do sétimo dia da evolução ascítica. Leucopenia progressiva, indicadora de incompetência imunológica, associada ao efeito imunossupressivo do Sarcoma 180 ⁽⁸²⁾ que diminui

in vivo e *in vitro* a imunidade antibacteriana ⁽⁸⁹⁾. Presença das concentrações ascíticas de proteínas e íons, refletem alterações na manutenção da pressão colóido-osmótica, fato este, evidenciado pela inversão do gradiente de albumina soro-ascite. Todos estes fatores são colimadores do aumento da permeabilidade vascular intraperitoneal, que neste período (7º dia) atingiu seus valores máximos em relação aos valores de referência obtidos no grupo controle.

Portanto, a presença da ascite, o aumento da permeabilidade vascular, o desequilíbrio iônico e as deficiências imunológicas antibacterianas do hospedeiro, confluem na subsequente inabilidade do rato em controlar a colonização pelas bactérias translocadas através da parede intestinal, justificam e comprovam a hipótese de que neste modelo animal ocorreu translocação de bactérias entéricas consequente à evolução ascítica tumoral.

7. Conclusão

7. Conclusão

Ocorreu aumento da permeabilidade da microcirculação e translocação bacteriana em ratos sob vigência de ascite induzida pelo Sarcoma 180.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- 1 - ABT, I. A. Alimentary intoxication. In: _____ **ABT's Pediatrics**. 2. ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1923. v. 3, p. 289.
- 2 - ALEXANDER, J. W.; BOYCE, S. T.; BABCOCK, G. F.; GIANOTTI, L.; PECK, M. D.; DUNN, D. L.; PYLES, T.; CHILDRESS, M.A.T.; ASH, S. K. The process of Microbial Translocation. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 212, n. 4, p. 496-512, 1990.
- 3 - ALEXANDER, J. W.; GIANOTTI, L.; PYLES, T.; CAREY, M. A.; BABCOCK, G. F. Distribution and survival of Escherichia coli translocating from the intestine after thermal injury. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 213, n. 6, p. 558-567, 1991.
- 4 - ALVERDY, J.; AOYS, E. The effect of glucocorticoid administration on bacterial translocation : evidence for an acquired mucosal immunodeficient state. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 214, n. 6, p.719-625, 1991.
- 5 - ALVERDY, J.; AOYS, E.; MOSS, G. S. Total parenteral nutritional promotes bacterial translation from gut. **Surgery**, St. Louis, v. 104, n. 2, p. 185-190, 1988.
- 6 - ALVERDY, J.; CHI, H. S.; SHELDON, G. F. The effect of parenteral nutrition on gastrointestinal immunity : the importance of enteral stimulation. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 202, n. 6, p. 681-684, 1985.
- 7 - AMBROSE, N. S.; JOHNSON, M.; BURDON, D. W.; KEIGHLEY, M. R. B. Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. **Br. J. Surg.**, St. Louis, v. 104, p. 185-190, 1984.
- 8 - ANDRIGUETTO, P. C. **O uso do ômega 3 em rato wistar submetido a colite induzida**. Curitiba, 1995. Tese (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - Hospital Evangélico.
- 9 - ANTONSSON, J. B.; FIDDIAN-GREEN, R. G. The role of the gut in shock and multiple system organ failure. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 157, p. 3-12, 1991.
- 10 - ARNOLD, L. Alterations in the endogenous enteric bacterial flora and microbic permeability of the intestinal wall in relation to the nutritional and metereological changes. **J. Hyg.**, London, v. 29, p. 82-116, 1930.
- 11 - ARNOLD, L.; BRODY, L. Passage of living bacteria through the intact intestinal mucosa. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Cambridge, v. 25, p. 247-248, 1928.

- 12 - ARROYO, V.; GINES, P.; JIMÉNEZ, W.; RODÉS, J. Ascites, renal failure, and electrolyte disorders in cirrhosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. In: _____ **Oxford textbook of clinical hepatology**. 2.ed. New York : Oxford University, 1992, v. 1, cap. 9, p. 429-470.
- 13 - BAC, D. J.; MARIE, S.; BLANKESTEIN, M. Spontaneous bacterial peritonitis complicating malignancy-related ascites. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v. 41, n. 1, p. 131-132, 1996.
- 14 - BAKER, J. W.; DEITCH, E. A.; LI, M.; BERG, R. D.; SPECIAN, R.D. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from de gut. **J. Trauma**, Baltimore, v. 28, n. 7, p. 896-903, 1988.
- 15 - BERG, R. D. Promotion of the translocation of enteric bacteria from the gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicillin, clindamycin, or metronidazole. **Infec. Immun.**, Washington, v. 33, n. 3, p. 854-861, 1981.
- 16 - 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, 1979.
- 17 - BERG, R. D.; WOMMACK, E.; DEITCH, E. A. Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 123, p. 1359-1364, 1988.
- 18 - BERGEY'S manual of determinative bacteriology. 9.ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1994. p. 528.
- 19 - BESREDKA, A. De la vaccination contre les états typhoides par la voie buccale. **Ann. Inst. Pasteur**, Paris, v. 33, p. 882-903, 1919.
- 20 - BORDON DE CORVALÁN, A. C. **Aplicação do micrométodo espectrofotométrico para determinação de azul de Evans em plasma e tecido colônico de ratos Wistar**. Curitiba, 1994. Tese (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- 21 - BRANDTZAEG, P.; HALSTENSEN, T. S.; KETT, K.; KRAJCI, P.; KVALE, D.; ROGNUM, T. O.; SCOTT, H.; SOLLID, L. M. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 97, n. 6, p. 1562-1584, 1989.
- 22 - BROOKS, S. G.; MAY, J.; SEDMAN, P.; TRING, I.; JOHNSTONE, D.; MITCHELL, C. J.; MACFIE, J. Translocation of enteric bacteria in humans. **Br. J. Surg.**, Guildford, v. 80, n. 7, p. 901-902, 1993.

- 23 - BURKE, D. J.; ALVERDY, J. C.; AOYS, E.; MOSS, G. S. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. **Arch. Surg.**, Chicago, v.124, p. 1396-1399, 1989.
- 24 - 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.
- 25 - CARTER, P. B.; COLLINS, F. M. The route of enteric infection in normal mice. **J. Exp. Med.**, New York, v. 139, p. 1189-1203, 1974.
- 26 - COHN, E. M. Ascites. In : BERK J. E. **Gastroenterology**, 4. ed. Philadelphia : Saunders, 1985, v. 1, cap. 11, p. 177-190.
- 27 - CONN, H. O.; ATTERBURY, C. E. Cirrhosis. In: SCHIFF, L.; SCHIFF, E. (Ed). **Diseases of the liver**. 6. ed. Philadelphia : J. B. Lippincott, 1987. cap. 20, p. 725-864.
- 28 - CRABBÉ, P. A.; BAZIN, H.; EYSSEN, H.; HEREMANS, J. F. The normal microbial flora as a major stimulus for proliferation of plasma cells synthesizing IgA in the gut. **Int. Arch. Allergy**, Basel, v. 34, p. 362-375, 1968.
- 29 - DAWSON, A. D. Historical notes on ascites. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 39, n. 6, p. 790-791, 1960.
- 30 - DEITCH, E. A. Infection in the compromised host. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 68, n. 1, p. 181-196, 1988.
- 31 - _____. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. **Arch. Surg.**, Chicago, v.124, p. 699-701, 1989.
- 32 - _____. Bacterial translocation : is it of clinical significance. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 98, n. 1, p. 243-244, 1990.
- 33 - _____. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. **Arch. Surg.**, Chicago, v.125, p. 403-404, 1990.
- 34 - 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. 161-165, 1987.
- 35 - DEITCH, E. A.; BERG, R.D.; SPECIAN, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. **Arch. Surg.**, Chicago, v.122, p. 185-190, 1987.
- 36 - DEITCH, E. A.; BRIDGES, W. M. Effect of stress and trauma on bacterial translocation from the gut. **J. Surg. Res.**, San Diego, v. 42, n. 5, p. 536-542, 1987.

- 37 - DEITCH, E. A.; BRIDGES, W. M.; MA, J. W.; MA, L.; BERG, R. D.; SPECIAN, R. D. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 394-401, 1990.
- 38 - DEITCH, E. A.; MAEJIMA, K.; BERG, R. D. 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, 1985.
- 39 - DEITCH, E. A.; MORRISON, J.; BERG, R. D.; SPECIAN, R. D. Effect of hemorrhagic shock on bacterial translocation, intestinal morphology, and intestinal permeability in conventional and antibiotic-decontaminated rats. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v. 18, n. 5, p. 529-536, 1990.
- 40 - DEITCH, E. A.; SITTIG, K.; LI, M.; BERG, R. D.; SPECIAN, R. D. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 79-84, 1990.
- 41 - DEITCH, E. A.; WINTERTON, J.; BERG, R. D. Thermal injury promotes bacterial translocation from the gastrointestinal tract in mice with impaired T-cell-mediated immunity. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 121, p. 97-101, 1986.
- 42 - EDMISTON, C. E.; CONDON, R. E. Bacterial translocation. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 173, p. 73-83, 1991.
- 43 - ELEFThERIADIS, E.; KOTZAMPASSI, K.; PAPANOTAS, K.; HELIADIS, N.; SARRIS, K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. **World J. Surg.**, New York, v. 20, n. 1, p. 11-16, 1996.
- 44 - FASANO, A.; BUDDILON, G.; GUANDALINI, S.; CUOMO, R.; PARRILLI, G.; CANGIOTTI, A. M.; MORRONI, M.; RUBINO, A. Bile acids reversible effects on small intestinal permeability. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v. 35, n. 7, p. 801-807, 1990.
- 45 - FASTAIA, J.; DUMONT, A. E. Pathogenesis of ascites in mice with peritoneal carcinomatosis. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, v. 56, n. 3, p. 547-550, 1976.
- 46 - FELDMAN, G. B.; KNAPP, R. C.; ORDER, S. E.; HELLMAN, S. The role of lymphatic obstruction in the formation of ascites in a murine ovarian carcinoma. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 32, p. 1663-1666, 1972.
- 47 - FLEXNER, S. Peritonitis caused by the invasion of the micrococcus lanceolatus from the intestine. **Johns Hopkins Hosp.**, Baltimore, n. 49, v. 6, p. 64-67, 1895.
- 48 - FRAENKEL, A. Ueber peritoneale infektion. **Wien Klin. Wochenschr.**, Viena, v. 4, n. 14, p. 265-268, 1891.

- 49 - FULLER, R.; JAYNE-WILLIAMS, D. J. Resistance of the fowl (*Gallus domesticus*) to invasion by its intestinal flora. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 11, p. 368-374, 1970.
- 50 - GARCIA-TSAO, G.; ALBILLOS, A.; BARDEN, G. E.; WEST, A. B. Bacterial translocation in acute and chronic portal hypertension. **Hepatology**, St. Louis, v.17, n. 6, p. 1081-1085, 1993.
- 51 - GARRISON, R. N.; KAELIN, L. D.; GALLOWAY, R. H.; HEUSER, L. S. Malignant ascites : clinical and experimental observations. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 203, n. 6, p. 644-651, 1986.
- 52 - GENNARI, R.; ALEXANDER, J. W. Effects of hyperoxia on bacterial translocation and mortality during gut-derived sepsis. **Arch. Surg.**, Chicago, v.131, p.57-62, 1996.
- 53 - GORDON, L. E.; RUMML, D.; HAHNE, H. J.; MILLER, P. Studies on susceptibility to infection following ionizing radiation. **J. Exp. Med.**, New York, v. 102, p. 413-425, 1955.
- 54 - GUZMAN-STEIN, G.; BONSAK, M.; LIBERTY, J.; DELANEY, J. P. Abdominal radiation causes bacterial translocation. **J. Surg. Res.**, New York, v. 46, n. 2, p. 104-107, 1989.
- 55 - GUO, W.; ANDERSSON, R.; LJUNGH, A.; WANG, X. D.; BENGMARK, S. Enteric bacterial translocation after intraperitoneal implantation of rubber drain pieces. **Scand. J. Gastroenterol.**, Oslo, n. 28, p. 393-400, 1993.
- 56 - HAJAR, N. **O uso do Azul de Evans para avaliar a permeabilidade vascular na colite induzida com ácido acético a 10% em ratos Wistar**. Curitiba, 1994. Tese (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- 57 - HEUSER, L. S.; MILLER, F. N. Differential macromolecular leakage from the vasculature of tumors. **Cancer**, Philadelphia, v. 57, n. 3, p. 461-464, 1986.
- 58 - HEUSER, L. S.; TAYLOR, S. H.; FOLKMAN, J. Prevention of carcinomatosis and bloody malignant ascites in the rat by an inhibitor of angiogenesis. **J. Surg. Res.**, New York, v. 36, p. 244-250, 1984.
- 59 - HIRABAYASHI, K.; GRAHAM, J. Genesis of ascites in ovarian cancer. **Amer. J. Obstet. Gynec.**, St. Louis, v. 106, n. 4, p. 492-497, 1970.
- 60 - HOHMANN, A. W.; SCHMIDT, G.; ROWLEY, D. Intestinal colonization and virulence of *Salmonella* in mice. **Infec. Immun.**, Washington, v. 22, n. 3, p. 763-770, 1978.
- 61 - HOLM-NIELSEN, P. Pathogenesis of ascites in peritoneal carcinomatosis. **Acta Path.**, Copenhagen, v. 1, n. 33, p. 10-21, 1953.

- 62 - HORNEMANN, S. Beitrag zur frage uber die bakteriendurchlassigkeit der schleimhaut des magendarmkanals. **Zschr. Hyg.**, v. 64, p. 39-67, 1911.
- 63 - ISNER, J.; MACDONALD, J. S.; SCHEIN, P. Spontaneous streptococcus pneumonia peritonitis in a patient with metastatic gastric cancer. **Cancer**, Philadelphia, v. 39, n. 5, p. 2306-2309, 1977.
- 64 - JONES II, W. G.; BARBER, A. E.; KAPUR, S.; HAWES, A. J.; FAHEY III, T. J.; MINEI, J. P.; SHIRES III, G. T.; CALVANO, S. E.; SHIRES, G. T. Pathophysiologic glucocorticoid levels and survival of translocation bacteria. **Arch. Surg.**, Chicago, v.126, p. 50-55, 1991.
- 65 - KAUFMANN, E. Lehrbuch der speziellen pathologische anatomie für studierende und äertzye. Berlin : Gruyter Reimer, 1922. p. 119.
- 66 - KELLER, R.; ENGLE, F. B. Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various routes. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Cambridge, v. 98, n. 3, p. 577-581, 1958.
- 67 - KELLERMAN, G. D.; WATERMAN, N. G.; SCHARFENBERGER, L. F. Demonstration *in vitro* of postmortem bacterial transmigration. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 66, p. 911-915, 1976.
- 68 - KIST, C. **Estudo dos marcadores tumorais na ascite induzida pelo sarcoma 180 : estudo experimental em ratos.** Curitiba, 1995. Tese (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - Hospital Evangélico.
- 69 - KRAUSE, W.; MATHEIS, H.; WULF, K. Fungaemia and funguria after oral administration of candida albicans. **Lancet**, London, v. 1, p. 598-599, 1969.
- 70 - LESCUT, D.; COLOMBEL, J. F.; VINCENT, P.; CORTOT, A.; FOURNIER, L.; QUANDALLE, P.; VANKEMMEL, M.; TRIBOULET, J. P.; WURTZ, A.; PARIS, J. C.; LECLERC, H. Bacterial translocation in colorectal cancers. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, Paris, v. 14, p. 811-814, 1990.
- 71 - LLOVET, J. M.; BARTOLÍ, R.; PLANAS, R.; CABRÉ, E.; JIMENEZ, M.; URBAN, A.; OJANGUREN, I.; ARNAL, J.; GASSUL, M. A. Bacterial translocation in cirrhotic rats : its role in the development of spontaneous bacterial peritonitis. **Gut**, London, v. 35, p. 1648-1652, 1994.
- 72 - MA, L.; MA, J. W.; DEITCH, E. A.; SPECIAN, R. D.; BERG, R. D. Genetic susceptibility to mucosal damage leads to bacterial translocation in a murine burn model. **J. Trauma**, Baltimore, v. 29, n. 9, p. 1245-1251, 1989.
- 73 - MAEJIMA, K.; DEITCH, E. A.; BERG, R. D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury. **Infect. Immun.**, Washington, v. 43, n. 1, p. 6-10, 1984.

- 74 - _____. Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of mice. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 119, p. 166-172, 1984.
- 75 - MAINOUS, M. R.; TSO, P.; BERG, R. D.; DEITCH, E. A. 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, 1991.
- 76 - MANDL, F. Beitrag zur frage der "kryptogenetischen peritonitis". **Deut. Zschr. Chir.**, v. 182, p. 289-307, 1923.
- 77 - MATTOS, A. A. Estudo do líquido de ascite. **AMRIGS**, Porto Alegre, v. 27, n. 3, p. 294-301, 1983.
- 78 - MORA, E. M.; CARDONA, M. A.; SIMMONS, R. L. Enteric bacteria and ingested inert particles translocate to intraperitoneal prosthetic materials. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 126, p. 157-163, 1991.
- 79 - MOREHOUSE, J. L.; SPECIAN, R. D.; STEWART, J. J.; BERG, R. D. Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 91, n. 3, p. 673-682, 1986.
- 80 - OWENS, W. E.; BERG, R. D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract of athymic (*nu/nu*) mice. **Infect. Immun.**, Washington, v. 27, n. 2, p. 461-467, 1980.
- 81 - PARÉ, P.; TALBOT, J.; HOEFS, J. C. Serum-ascites albumin concentration gradient : a physiologic approach to the differential diagnosis of ascites. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 85, n. 3, p. 240-244, 1983.
- 82 - PENN, R. L.; MACA, R. D.; BERG, R. D. Increased translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of tumor-bearing mice. **Infect. Immun.**, Washington, v. 47, n. 3, p. 793-798, 1985.
- 83 - PHARMACOPEIA United States. USP-XXII, Rockville, USPC. **Pharmacopeial Convention**, 1990.
- 84 - REYNOLDS, J. V.; MURCHAN, P.; LEONARD, N.; CLARKE, P.; KEANE, F. B. V.; TANNER, A. Gut barrier failure in experimental obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, San Diego, v. 62, p. 11-16, 1996.
- 85 - ROMERO, S.; FUENZALIDA, L. Manejo y uso de animales de laboratorio. Santiago : Instituto de Salud Publica de Chile, 1991. v. 1, p. 135.
- 86 - ROSCHER, R.; OETTINGER, W.; BEGER, H. G. Bacterial microflora, endogenous endotoxin, and prostaglandins in small bowel obstruction. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 155, p. 348-355, 1988.

- 87 - RUNYON, B. A. Editorial : malignancy-related ascites and ascitic fluid "humoral tests of malignancy". **J. Clin. Gastroenterol.**, New York, v. 18, n. 2, p. 94-98, 1994.
- 88 - RUNYON, B. A.; SQUIER, S.; BORZIO, M. Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis. **J. Hepatol.**, Limerick, v. 21, p. 792-796, 1994.
- 89 - SAITO, H.; TOMIOKA, H. Suppressive factor of tumor origin against macrophage phagocytosis of staphylococcus aureus. **Br. J. Cancer**, Basingstoke, v. 41, n. 259, p. 259-267, 1980.
- 90 - SAYDJARI, R.; BEERTHUIZEN, G. I. J. M.; TOWNSEND, C. M.; HERNDON, D. N.; THOMPSON, J. C. Bacterial translocation and its relationship to visceral blood flow, gut mucosal ornithine decarboxylase activity, and DNA in pigs. **J. Trauma**, Baltimore, v. 31, n. 5, p. 639-644, 1991.
- 91 - SCHATTEN, W. E.; DESPREZ, J. D.; HOLDEN, W. D. A bacteriologic study of portal-vein blood in man. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 71, p. 404-409, 1955.
- 92 - SCHIMPF, S. C. Infection prevention during profound granulocytopenia. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 93, p. 358-361, 1980.
- 93 - SCHWEINBURG, F. B.; FRANK, H. A.; FRANK, E. D.; HEIMBERG, F.; FINE, J. Transmural migration of intestinal bacteria during peritoneal irrigation in uremic dogs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Cambridge, v. 71, p. 150-153, 1949.
- 94 - SCHWEINBURG, F. B.; SELIGMAN, A. M.; FINE, J. Transmural migration of intestinal bacteria : a study based on the use of radioactive Escherichia coli. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 242, p. 747-751, 1950.
- 95 - SEDMAN, P. C.; MACFIE, J.; SAGAR, P.; MITCHELL, C. J.; MAY, J.; MANCEY-JONES, B.; JOHNSTONE, D. The prevalence of gut translocation in humans. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 107, n. 3, p.643-649, 1994.
- 96 - SENGER, D. R.; GALLI, S. J.; DVORAK, A. M.; PERRUZZI, C. A.; HARVEY, V. S.; DVORAK, H. F. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. **Science**, Washington, v. 219, p. 983-985, 1983.
- 97 - SHERLOCK, S. Ascite. In:_____. **Doenças do fígado e sistema biliar**. 5. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1978. cap. 8, p. 96-115.
- 98 - 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. 305-309, 1992.

- 99 - SORELL, W. T.; QUIGLEY, E. M. M.; JIN, G.; JOHNSON, T. J.; RIKKERS, L. F. Bacterial translocation in the portal-hypertensive rat: studies in basal conditions and on exposure to hemorrhagic shock. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 104, n. 6, p. 1722-1726, 1993.
- 100 - SOUBA, W. W.; KLIMBERG, V. S.; HAUTAMAKI, R. D.; MENDENHALL, W. H.; BOVA, F. C.; HOWARD, R. J.; BLAND, K. I.; COPELAND, E. M. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. **J. Surg. Res.**, San Diego, v. 48, n. 1, p.1-5, 1990.
- 101 - SPAETH, G.; BERG, R. D.; SPECIAN, R. D.; DEITCH, E. A. Food without fiber promotes bacterial translocation from the gut. **Surgery**, St. Louis, v. 108, n. 2, p. 240-247, 1990.
- 102 - SPITZ, J. C.; GHANDI, S.; TAVERAS, M.; AOYS, E.; ALVERDY, J. C. Characteristics of the intestinal epithelial barrier during dietary manipulation and glucocorticoid stress. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v. 24, n. 4, p. 635-641, 1996.
- 103 - STEFFEN, E. K.; BERG, R. D. Relationship between cecal population levels of indigenous bacteria and translocation to the mesenteric lymph nodes. **Infect. Immun.**, Washington, v. 39, n. 3, p. 1252-1259, 1983.
- 104 - STEFFEN, E. K.; BERG, R. D.; DEITCH, E. A. Comparison of translocation rates of various indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph node. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 157, n. 5, p. 1032-1038, 1988.
- 105 - TANCRÈDE, C. H.; ANDREMONT, A. O. Bacterial Translocation and gram-negative bacteremia in patients with hematological malignancies. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 152, n. 1, p. 99-103, 1985.
- 106 - TANNOCK, G. W.; SAVAGE, D. C. Influences of dietary and environmental stress on microbial populations in the murine gastrointestinal tract. **Infect. Immun.**, Washington, v. 9, n. 3, p. 591-598, 1974.
- 107 - TARPILA, E.; NYSTRÖM, P. O.; FRANZÉN, L.; IHSE, I. Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 159, p. 109-113, 1993.
- 108 - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. Normas para apresentação de trabalhos. 5.ed. Curitiba : Ed. da UFPR, 1995. 8 v.
- 109 - VAN DER WAAIJ, D.; BERGHUIS DE VRIES, J. M.; LEKKERKERK VAN DER WEES, J. E. C. Colonization resistance of the digestive tract and the spread of bacteria to the lymphatic organs in mice. **J. Hyg.**, London, v. 70, p. 335-341, 1972.
- 110 - VOLKHEIMER, G. Passage of particles through the wall of the gastrointestinal tract. **Environ. Health Perspect.**, Washington DC, v. 9, p. 215-225, 1974.

- 111 - WALKER, R. I.; PORVAZNIK, M. J. Disruption of the permeability barrier (zonula occludens) between intestinal epithelial cells by lethal doses of endotoxin. **Infect. Immun.**, Washington, v. 21, n. 2, p. 655-658, 1978.
- 112 - WANG, X. D.; ANDERSSON, R.; SOLTESZ, V.; BENGMARK, S. Bacterial translocation after major hepatectomy in patients and rats. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 127, p.1101-1106, 1992.
- 113 - WANG, X. D.; LU, C. W.; CHAO, Y.; LEE, M. Y.; LIN, H. C.; LEE, S. D.; TSAI, Y. T.; CHEN, C. C.; LO, K. J. Malignancy-related ascites: a diagnostic pitfall of spontaneous bacterial peritonitis by ascitic fluid polymorphonuclear cell count. **J. Hepatol.**, Limerick, v. 200, p. 79-84, 1994.
- 114 - WELLS, C. L. Relationship between intestinal microecology and the translocation of intestinal bacteria. **Antonie Van Leeuwehoek**, Dordrecht, v. 58, p. 87-93, 1990.
- 115 - WELLS, C. L.; JECHOREK, R. P.; ERLANDSEN, S. L. Evidence for the translocation of *Enterococcus faecalis* across the mouse intestinal tract. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 162, p. 82-90, 1990.
- 116 - WELLS, C. L.; JECHOREK, R. P.; GILLINGHAM, K. J. Relative contributions of host and microbial factors in bacterial translocation. **Arch. Surg.**, Chicago, v.126, p. 247-252, 1991.
- 117 - WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A.; SIMMONS, R. L. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 122, p. 48-53, 1987.
- 118 - _____. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, Chicago, v. 10, n. 5, p. 958-979, 1988.
- 119 - WELLS, C. L.; ROTSTEIN, O. D.; PRUETT, T. L.; SIMMONS, R. L. Intestinal bacteria translocate into experimental intra-abdominal abscesses. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 121, p. 102-107, 1986.
- 120 - WILMORE, D. W.; SMITH, R. J.; O'DWYER, S. T.; JACOBS, D. O.; ZIEGLER, T. R.; WANG, X. D. The gut : a central organ after surgical stress. **Surgery**, St. Louis, v. 104, n. 5, p. 917-923, 1988.
- 121 - WOLOCHOW, H.; HILDEBRAND, G. J.; LAMANNA, C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat : effect of microbial size and concentration. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 116, n. 4, p. 523-528, 1966.
- 122 - YOSHIDA, T.; KOBAYASHI, E.; MIYATA, M. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy. **Arch. Surg.**, Chicago, v.131, p. 219-220, 1996.

- 123 - ZAPATA-SIRVENT, R. L.; LAROCCA, A.; PIÑATE, S.; ANTEQUERA, R.; GONZALEZ, R. C.; MEDICO, P. D.; PARIS, M. M.; CASTRO, M. J.; MARZULLO, V.; OLAVARRIA, R.; PIFANO, E. Factores involucrados en la translocacion bacteriana en un modelo experimental de obstruccion intestinal. **GEN.**, Caracas, v. 43, n. 3, p. 185-193, 1989.
- 124 - ZAPATA-SIRVENT, R. L.; MONACO, V. M.; PIÑATE, S.; MEDICO, P. D.; URBINA, A.; LAROCCA, A.; ANTEQUERA, R.; GUZMAN, M.; PIFANO, E. Translocacion bacteriana en un modelo de obstruccion intestinal : II estudio bacteriologico y papel de la inmunidad celular. **GEN.**, Caracas, v. 45, n. 4, p. 273-280, 1991.
- 125 - ZAPATA-SIRVENT, R. L.; HANSBROUGH, J. F. Translocacion bacteriana papel en la etiologia de la sepsis y la falla de multiples organos. **GEN.**, Caracas, v. 46, n. 2, p. 137-151, 1992.
- 126 - ZHI-YONG, S.; YUAN-LIN, D.; XIAO-HONG, W. Bacterial translocation and multiple system organ failure in bowel ischemia and reperfusion. **J. Trauma**, Baltimore, v. 32, n. 2, p. 148-153, 1992.
- 127 - ZIEGLER, T. R.; SMITH, R. J.; O'DWYER, S. T.; DEMLING, R. H.; WILMORE, D. W. Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 123, p. 1313-1318, 1988.