

KEDMA DE MAGALHÃES LIMA

Associação entre esquistossomose mansônica
e infecções microbianas: estudo da
translocação microbiana em camundongos na
fase crônica, submetidos à esplenectomia





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL**

Kedma de Magalhães Lima

**Associação entre esquistossomose mansônica e infecções
microbianas: estudo da translocação microbiana em
camundongos na fase crônica, submetidos à esplenectomia**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

Área de concentração: Doenças infecciosas e parasitárias.

ORIENTADORA

Profa. Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Professora Associada do Departamento de Medicina Tropical
Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Pernambuco

Lima, Kedma de Magalhães

Associação entre esquistossomose mansônica e infecções microbianas: estudo da translocação microbiana em camundongos na fase crônica, submetidos à esplenectomia / Kedma de Magalhães Lima. – Recife: O Autor, 2012.

178 folhas: il., fig., Graf. e quadros ; 30 cm.

Orientador: Célia Maria Machado Barbosa de Castro.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2012.

Inclui bibliografia, anexos e apêndices.

1. Esquistossomose. 2. Esplenectomia. 3. Translocação bacteriana. 4. Sepses. 5. Linfonodos mesentéricos. I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de. II. Título.

616.963

CDD (20.ed.)

UFPE
CS2012-01



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

José Thadeu Pinheiro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADORA

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

VICE-COORDENADORA

Heloísa Ramos Lacerda

CORPO DOCENTE

Ana Lúcia Coutinho Domingues
Célia Maria Machado Barbosa de Castro
Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto
Fábio André Brayner dos Santos
Heloísa Ramos Lacerda
Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho
Marli Tenório Cordeiro
Ricardo Arraes de Alencar Ximenes
Valdênia Maria Oliveira de Souza
Vlaúdia Maria Assis Costa
Vera Magalhães da Silveira

COMISSÃO EXAMINADORA

Membros Titulares

Dra. Ana Catarina Lopes (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Dr. Carlos Teixeira Brandt (Departamento de Cirurgia - UFPE)

Dr. Fábio Brayner (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Dra. Jairza Maria Barreto Medeiros (Departamento de Nutrição - UFBA)

Dra. Mônica Camelo (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Membros Suplentes

Dr. Luiz Alves (Setor de Microscopia Eletrônica/LIKA - UFPE)

Dra. Maria do Amparo Andrade (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Tese: Associação entre esquistossomose mansônica e infecções microbianas: estudo da translocação microbiana em camundongos na fase crônica, submetidos à esplenectomia.

Doutoranda: **Kedma de Magalhães Lima**

Data da defesa: **19 / 07 / 2011**

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Ana Catarina Lopes (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Dr. Carlos Teixeira Brandt (Departamento de Cirurgia - UFPE)

Dr. Fábio Brayner (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)

Dra. Jairza Maria Barreto Medeiros (Departamento de Nutrição - UFBA)

Dra. Mônica Camelo (Departamento de Medicina Tropical - UFPE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPESQ)
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

KEDMA DE MAGALHÃES LIMA

No dia 19 de julho de 2011, às 09h00, na Sala Prof. Morillo La Greca – 3º. and. do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE) –, os Membros Doutores: o Prof. Dr. Fábio André Brayner dos Santos (Presidente da Banca – CPqAM/FIOCRUZ), o Prof. Dr. Carlos Teixeira Brandt (Membro Externo – UFPE), a Prof. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque (Membro Externo – UFPE), a Prof. Dra. Ana Catarina de Souza Lopes (Membro Externo – UFPE) e a Prof. Dra. Jaiza Maria Barreto Medeiros (Membro Externo – UFPA), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguiram a doutoranda KEDMA DE MAGALHÃES LIMA sobre a sua Tese intitulada “ASSOCIAÇÃO ENTRE ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA E INFECÇÕES MICROBIANAS: ESTUDO DA TRANSLOCAÇÃO MICROBIANA EM CAMUNDONGOS NA FASE CRÔNICA, SUBMETIDOS À ESPLENECTOMIA”, a qual foi orientada pela Prof. Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro (UFPE). Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções fixaram publicamente fornecidas:

Prof. Dr. Fábio André Brayner dos Santos

Aprovado

Prof. Dr. Carlos Teixeira Brandt

Aprovado

Prof. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Aprovado

Prof. Dra. Ana Catarina de Souza Lopes

Aprovado

Prof. Dra. Jaiza Maria Barreto Medeiros

Aprovado

Prof. Dr. Fábio André Brayner dos Santos

Prof. Dr. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Prof. Dra. Ana Catarina de Souza Lopes

Prof. Dra. Jaiza Maria Barreto Medeiros

***“Se as coisas são inatingíveis...ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos se não fora
A mágica presença das estrelas.”***

(Das Utopias – Mário Quintana)

***A painho e mainha, minhas bases por toda a vida, que
nunca deixaram de me amar e compreender nos momentos mais
difíceis e sempre acreditaram que seria possível ver a “cria” não
esmorecer... por todo apoio e dedicação.***

***A David, que mudou de rota para me
acompanhar nesta jornada.***

Com amor, dedico.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

“Duas crianças estavam patinando num lago congelado da Alemanha. Era uma tarde nublada e fria, e as crianças brincavam despreocupadas. De repente, o gelo se quebrou e uma delas caiu, ficando presa na fenda que se formou. A outra, vendo seu amigo preso e congelando-se, tirou um dos patins e começou a golpear o gelo com todas as suas forças, conseguindo por fim quebrá-lo e libertar o amigo.

Quando os bombeiros chegaram e viram o que havia acontecido, perguntaram ao menino:

- Como você conseguiu fazer isso? É impossível que tenha conseguido quebrar o gelo, sendo tão pequeno e com mãos tão frágeis!

Nesse instante, um gênio, que passava pelo local, comentou:

- Eu sei como ele conseguiu.

Todos perguntaram:

- Pode nos dizer como?

- É simples, respondeu o gênio. Não havia ninguém ao seu redor, para lhe dizer que não seria capaz. Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos! - Fazer ou não fazer algo, só depende de nossa vontade e perseverança.”

Albert Einstein

À minha querida orientadora Professora Célia, por toda confiança, zelo, amizade, ensinamentos e companherismo. Este texto reflete muito bem a cumplicidade e confiança que há na nossa relação orientanda e orientadora.

AGRADECIMENTOS

*“Todos juntos somos fortes
Somos flecha e somos arco
Todos nós no mesmo barco
Não há nada pra temer.”*
Chico Buarque de Holanda

Agradeço primeiramente a **Deus** por ser fonte inesgotável de luz que ilumina e guia todos os meus passos, e por ter sido sustentação nestes anos de estudo que direcionaram a obtenção deste título.

Aos meus Pais (**Antônio** e **Lenira**) e irmãos (**Kerlle** e **Kedson**) por tudo!

Agradeço à minha grande **família** por todo amor, apoio e incentivo que dedicaram a mim, apesar de alguns estarem distantes e mesmo, em outro plano.

A **David**, por suportar minha ausência, mesmo estando em um país desconhecido e com um idioma diferente. Obrigada pelas provas de amor, paciência e dedicação diária. Sem você teria sido complicado continuar este sonho!

A **Dra. Rossana Sette**, minha eterna cúmplice, por ter participado do meu crescimento profissional e pessoal. Não é preciso dizer nada, visto que ela já conhece muito bem o que penso ao seu respeito, e também do sentimento imensurável que sinto pela nossa amizade!

A **Profa. Dra. Mônica Camelo**, por sua sabedoria, paciência, atenção e tempo dispensado durante a realização deste trabalho, sendo sua contribuição fundamental na infecção dos camundongos.

A **Dra. Maria Helena**, médica veterinária, responsável pelo biotério do LIKA e minha grande colaboradora, pelo carinho, amizade, paciência e pela competência ao transmitir seu vasto conhecimento na obtenção, cuidado e cirurgia dos animais.

A **Dr. José Lamartine** e **Dra. Luciana Siqueira**, pela contribuição médica no projeto de pesquisa.

Ao LIKA, na pessoa de seu diretor, **Dr. José Luís de Lima Filho**, por disponibilização do laboratório aos sábados e domingos.

Ao Doutorando **André Aires**, pela valiosa colaboração e apoio durante a realização deste trabalho e principalmente por sua integridade tocante. Não tenho palavras para expressar minha gratidão por ti, André!

A **Thays**, minha primeira estagiária, por sua valiosa colaboração e desprendimento em doar-se ao projeto. Muitas vezes, recordei minha iniciação científica observando seus gestos!

A minha querida **Fátima**, também biomédica microbiologista, pelo apoio, conselhos, trocas de experiências e por suportar meus momentos de estresses.

A **Leandro Lucena** por toda atenção, amizade e colaboração nas análises estatísticas.

A professora **Dra. Rosângela Coelho** pelo carinho e amizade.

Aos funcionários do Biotério do LIKA, **Felipe** e **Paulo**, pelo zelo e cuidado com meus camundongos.

Agradeço aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, também aos companheiros do Doutorado, pelo apoio e incentivo mútuo.

A **Marília Gabriela**, **Carlos Weber**, **Juliana Félix** e **Bruno Galvão**, meus amigos, que acompanharam tudo de perto.

A **Jujú Rodrigues** e **Camylla Cavalcanti**, que afinal de contas, muitas vezes pude “chorar minhas mágoas” em seus ombros.

Aos amigos do Laboratório de Imunologia do LIKA que conviveram comigo ao longo desses anos e que sempre demonstraram companheirismo e tolerância nos momentos nebulosos da minha jornada.

Aos meus amigos, colegas, chefes, alunos, estagiários que compreenderam a minha ausência, inclusive em momentos importantes das suas vidas, pelas inúmeras vezes que não pude atender o celular por está “mergulhada” nesta tese. E mesmo assim, entenderam!

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar... As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

(Chico Xavier)

Recomeçar...

**Não importa onde você parou ...
em que momento....**

da vida você cansou...

**o que importa é que sempre é
possível e necessário
"Recomeçar".**

**Recomeçar é dar uma nova
chance a si mesmo...**

**é renovar as esperanças na vida
e o mais importante...**

acreditar em você de novo

**Sofreu muito nesse período? Foi
aprendizado.**

**Chorou muito? Foi limpeza da
alma.**

Ficou com raiva das pessoas?

Foi para perdoá-las um dia.

**Tem tanta gente esperando
apenas um sorriso seu para
"chegar" perto de você.**

Recomeçar...

**hoje é um bom dia para
começar novos desafios.**

Onde você quer chegar?

Ir alto ...sonhe alto...

queira o melhor do melhor...

**pensando assim trazemos pra
nós aquilo que desejamos...**

**Se pensarmos pequeno, coisas
pequenas teremos ...**

**Já se desejarmos fortemente o
melhor e principalmente
lutarmos pelo melhor, o melhor
vai se instalar em nossa vida.**

**"Porque sou do tamanho
daquilo que vejo, e não do
tamanho da minha altura."**

Carlos Drumond de Andrade



LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS

REVISÃO DA LITERATURA

	Página
Figura 1. Taxa de mortalidade e internação por esquistossomose. Brasil 1990-2009. FONTE: MS/SIM, SIH/SUS.....	32
Figura 2. Ciclo biológico da Esquistossomose. FONTE: PEARCE, MACDONALD, 2002.....	33
Figura 3. Fases evolutivas do <i>Schistosoma mansoni</i> . FONTE: SCIENCE PHOTO LIBRARY.....	34
Figura 4. Mesentério na Esquistossomose. FONTE: CARVALHO, COELHO, LENZI, 2008.....	37
Figura 5. Distribuição dos artigos sobre formas clínicas da esquistossomose segundo Estados brasileiros e formas clínicas, entre janeiro de 1997 e dezembro de 2006. FONTE: PORDEUS et al., 2008.....	38
Figura 6. Desenvolvimento da resposta imune durante a infecção pela esquistossomose. FONTE: PEARCE, MACDONALD, 2002.....	39
Figura 7. Equilíbrio entre o padrão Th1/Th2 da resposta imune. FONTE: LAMBERTUCCI et al., 2001.....	40
Figura 8. Trato digestório. FONTE: BRENCHLEY, DOUEK, 2008.....	54
Figura 9. Mecanismo de translocação bacteriana no intestino delgado. FONTE: MICHAEL, SHERMAN, 2010.....	56
Figura 10. Principais rotas de translocação bacteriana.....	58
Figura 11. Translocação de leveduras no trato digestório.....	59

METODOLOGIA

	Página
Figura 12. A. Camundongo Swiss webster. B. Gaiola de camundongos, com cama de maravalha, ração Labina® e bebedouro, alojada no Biotério do LIKA/UFPE.....	66
Quadro 1. Distribuição dos grupos de camundongos submetidos a estudo.....	67
Figura 13. Moluscos da espécie <i>B. glabrata</i> infectados, em meio aquático e sob exposição da	

luz artificial.....	69
Figura 14. A. Obtenção da suspensão cercariana. B. Cercária liberada pelo molusco e observada com auxílio da microscopia óptica (Ampliação x200).....	70
Figura 15. Camundongos anestesiados e expostos a suspensão de cercárias, por via percutânea, e luz artificial.....	70
Figura 16. Método de Kato-Katz.....	71
Figura 17. Esplenectomia em camundongos.....	72

ARTIGO I

	Página
Quadro 1. Estudos que relatam infecção bacteriana na esquistossomose mansônica, entre 1950 e 2011.....	80
Gráfico 1. Número de bactérias envolvidas em coinfeções com Esquistossomose segundo dados da literatura de 1950 a 2011.....	81
Gráfico 2. Manifestações clínicas das infecções bacterianas na Esquistossomose segundo dados da literatura de 1950 a 2011.....	82
Figura 1. Aparência do peritônio em camundongo não-infectado (A) e em camundongo com esquistossomose crônica (B).....	90
Figura 2. Ascite em camundongo com esquistossomose mansônica crônica.....	91

ARTIGO II

	Página
Tabela 1. Número médio de vermes recuperados e de ovos eliminados por grama de fezes em camundongos infectados por <i>S. mansoni</i> de acordo com o sexo.....	105
Gráfico 1. Peso corpóreo dos camundongos com 35, 80, 125 e 132 dias de nascidos.....	106
Gráfico 2. Peso esplênico dos camundongos com 132 dias de nascidos.....	107
Tabela 2. Distribuição da frequência de bactérias por UFC (log10/g de fezes) isoladas de amostras entéricas de camundongos esquistossomóticos e não infectados.....	107
Figura 1. Laminas histopatológicas da região média do intestino delgado de camundongos	

esquistossomóticos coradas com Hematoxílica-Eosina. A. Hipertrofia da vilosidade (ampliação x400). B. Granulomas na lamina própria compostos principalmente por neutrófilos e linfócitos (ampliação x400).....	108
Tabela 3. Comparação da morfometria da mucosa duodenal entre os grupos esquistossomótico e controle, machos e fêmeas.....	109
Tabela 4. Incidência e locais da translocação bacteriana de grupos esquistossomótico e controle, machos e fêmeas.....	110

ARTIGO III

	Página
Gráfico 1. Boxplot dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição e aos grupos.....	127
Tabela 1. Distribuição da frequência de bactérias por UFC (log10/g de fezes) isoladas de amostras entéricas de camundongos esplenectomizados e não esplenectomizados.....	128
Tabela 2. Comparação das médias das alturas das vilosidades, das áreas das vilosidades e das áreas totais em relação aos camundongos dos grupos EM, EF, CM e CF.....	129
Tabela 3. Incidência e locais da translocação bacteriana dos grupos esplenectomizado e controle, machos e fêmeas.....	129
Tabela 4. Distribuição da frequência de bactérias responsáveis por translocação bacteriana nos grupos estudados.....	130
Figura 1. A. Colônias bacterianas observadas na microbiota intestinal de camundongos esplenectomizados (Meio CPS ID®: verde – <i>Enterococcus faecalis</i> ; marrom – <i>Escherichia coli</i>). B. Colônias de <i>Escherichia coli</i> observadas no sangue periférico do mesmo camundongo da amostra anterior.....	130

ARTIGO IV

	Página
Tabela 1. Avaliação da carga parasitária de camundongos infectados pelo <i>S. mansoni</i> , esplenectomizados e não esplenectomizados.....	144

Gráfico 1. Boxplot do peso dos camundongos em relação aos grupos CF, EF, ESF e ESEF e aos dias de aferição.....	145
Tabela 2. Comparação do peso dos camundongos em relação aos dias de aferição e aos diferentes grupos em estudo.....	145
Tabela 3. Comparações múltiplas dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição...	146
Tabela 4. Distribuição das bactérias por UFC (log10/g de fezes) isoladas de amostras entéricas dos grupos de estudo.....	146
Figura 1. Área total dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.....	147
Figura 2. Altura das vilosidades dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.....	148
Figura 3. Área das vilosidades dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.....	148
Tabela 5. Comparações múltiplas dois a dois das áreas totais, alturas e áreas das vilosidades em relação aos grupos de avaliação.....	149

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALV	Altura das vilosidades
APC	Células apresentadoras de antígenos
AT	Área total
AV	Área das vilosidades
<i>B. glabrata</i>	<i>Biomphalaria glabrata</i>
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BGN-NF	Bacilos gram-negativos não fermentadores
BHI	Infusão de cérebro e coração
C	Controles
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CF	Fêmeas controles
CM	Machos controles
Coag neg	Coagulase negativa
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DP	Desvio padrão
DTH	Hipersensibilidade retardada
E	Esquistossomóticos
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EF	Fêmeas esquistossomóticas
EF	Camundongos fêmeas esplenectomizados
ELISA	Ensaio imunoabsorvente de ligações enzimáticas
EM	Machos esquistossomóticos
ESEF	Camundongos fêmeas esquistossomóticos e esplenectomizados
ESF	Camundongos fêmeas esquistossomóticos
F	Fêmeas

FI	Fragmentos do fígado
FoxP3	Marcador molecular específico para células Tregs e sua expressão
FSH	Hormônio folículo estimulante
GALT	Tecido linfático associado a mucosa do trato digestório
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HE	Hematoxilina-Eosina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papiloma vírus humano
HTLV	Vírus T-linfotrópicos humanos
IFN-γ	Interferon gama
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IMIP	Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LM	Linfonodos mesentéricos
M	Machos
<i>M. bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
MS/SIM	Ministério da Saúde/Sistema de Informações sobre Mortalidade
NK	Células <i>natural killer</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PMN	Polimorfonucleares
RMR	Região Metropolitana do Recife
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

<i>S. manson</i>	<i>Shistosoma manson</i>
<i>S. marcercens</i>	<i>Serratia marcercens</i>
SIH/SUS	Sistema de Informações Hospitalares/Sistema Único de Saúde
SLM	Cepa São Lorenzo da Mata
SP	Sangue da veia porta
SPe	Sangue periférico
SVS/MS	Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde
TB	Translocação bacteriana
TCR	Receptor de células T
TGF-β	Fator de crescimento tecidual beta
Th1	Linfócitos T auxiliares tipo 1
Th2	Linfócitos T auxiliares tipo 2
Th3	Linfócitos T auxiliares tipo 3
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
Tregs ou Tr	Células T regulatórias
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade

RESUMO

LIMA, K.M. **Associação entre esquistossomose mansônica e infecções microbianas: estudo da translocação microbiana em camundongos na fase crônica, submetidos à esplenectomia.** 2012. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO: Translocação bacteriana (TB) é a passagem de micro-organismos viáveis ou endotoxinas através da mucosa e lamina própria do trato digestório para os linfonodos mesentéricos e outros órgãos. Para que TB ocorra há necessidade da existência isolada ou em conjunto de fatores como queda da imunidade, alteração da microbiota e quebra da barreira defensiva da mucosa intestinal. Apesar dos inúmeros relatos sobre doenças bacterianas em esquistossomóticos, não foram encontrados trabalhos que elucidem a presença da TB, consequentemente, infecção e sepse na doença crônica, mesmo após esplenectomia. A esquistossomose pode provocar, além de alterações no sistema imunológico, dano ao intestino, sistema porta e linfonodos mesentéricos. Sexo e redução na evolução ponderal podem influenciar na resposta inflamatória contra *Schistosoma mansoni* e favorecer infecções secundárias. **OBJETIVOS:** Compreender as causas das coinfeções, considerando a TB e a influência da doença crônica na resistência ou susceptibilidade as infecções secundárias por componentes da microbiota intestinal, em camundongos esquistossomóticos machos e fêmeas, submetidos ou não a esplenectomia. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Camundongos Swiss webster (*Mus musculus*) (40fêmeas/40machos) com 35 dias de nascidos foram divididos em dois grupos: esquistossomóticos (20machos/20fêmeas) e controles (20machos/20fêmeas). Noventa dias após a exposição cercariana, 20 camundongos esquistossomóticos (10machos/10fêmeas) e 20 controles (10machos/10fêmeas) foram submetidos à esplenectomia total convencional. Os animais foram pesados após 35, 80 e de 125 a 132 dias de nascidos, quando foram eutanasiados para estudo da translocação bacteriana, análises da microbiota e morfometria intestinal. Para estudo da TB, foram coletados sangue periférico e da veia porta, fragmentos de órgãos e linfonodos mesentéricos. Para a microbiota, as fezes foram coletadas da região média do intestino delgado. Segmentos desta região foram seccionados transversalmente e longitudinalmente para análise morfométrica. **RESULTADOS:** Na **comparação entre camundongos esquistossomóticos e controles**, as fêmeas infectadas apresentaram maior carga parasitária e índice esplênico. Ocorreu diminuição da evolução ponderal nos esquistossomóticos ($p < 0,05$), que apresentaram maior variedade e quantidade de colônias bacterianas nas coproculturas. Houve redução na altura e área das vilosidades e do perímetro da superfície da mucosa no grupo esquistossomose ($p = 0,004$, $0,003$ e $< 0,001$, respectivamente). Nas culturas, o controle apresentou negatividade em sangue, fígado e baço, e 30% (20%fêmeas/10%machos) positividade em linfonodos mesentéricos. Todas as fêmeas esquistossomóticas apresentaram bactérias em linfonodos mesentéricos, 60% em sangue porta, 50% em fígado/baço, e 30% em sangue periférico. Os linfonodos mesentéricos de 70% dos machos esquistossomóticos apresentaram positividade, sangue porta (30%), fígado/baço (20%) e nenhuma em sangue periférico.

Em relação aos camundongos esplenectomizados, machos e fêmeas apresentaram redução da evolução ponderal, do 125º ao 132º dia de nascidos ($p < 0,0001$); apresentaram maior prevalência de coproculturas positivas, tanto com relação à densidade bacteriana por espécies, quanto ao número de unidades formadoras de colônias (UFC). A análise morfométrica duodenal revelou redução na altura e área das vilosidades de machos e fêmeas esplenectomizados, quando comparado aos respectivos controles ($p < 0,0001$). Os machos esplenectomizados apresentaram maiores taxas de TB. **Na comparação entre os camundongos esquistossomóticos esplenectomizados e não-esplenectomizados**, ocorreu maior redução de peso nos esquistossomóticos esplenectomizados ($p < 0,0001$). No estudo da microbiota intestinal, foi observado aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos estes grupos, com diferença apenas para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. Não houve redução na altura e área das vilosidades e do perímetro da superfície da mucosa entre esquistossomóticos esplenectomizados e não-esplenectomizados. Os camundongos esquistossomóticos esplenectomizados apresentavam-se bastante debilitados, e com maiores taxas de TB e sepse, inclusive por duas espécies bacterianas, gram-positivas e gram-negativas. **CONCLUSÕES:** Esquistossomose crônica modifica a evolução ponderal, morfometria e microbiota intestinal de camundongos e podem favorecer translocação, migração e sepse, principalmente em fêmeas, podendo estar relacionada ao maior parasitismo e alterações imunológicas. Além disso, a asplênia aumenta a suscetibilidade a TB, e consequentemente, doenças de origem séptica. Peso, sexo, microbiota intestinal e alterações da morfometria duodenal podem influenciar na ocorrência deste fenômeno.

PALAVRAS-CHAVES: esquistossomose, esplenectomia, translocação bacteriana, sepse, linfonodos mesentéricos.

ABSTRACT

LIMA, K.M. Association between schistosomiasis and microbial infections: study of microbial translocation in mice in the chronic phase, underwent splenectomy. 2012. Postgraduate Program in Medicina Tropical. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUCTION: Bacterial translocation (BT) is the passage of viable micro-organisms or endotoxins through the mucosa and lamina propria of the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs. For the occurrence of TB is necessary existence of isolated or combined changes in immunity, microbes and the mucosal defensive barrier. Despite numerous reports of bacterial diseases in schistosomiasis, there are no studies that elucidate the presence of BT, therefore, infection and sepsis in chronic disease, even after splenectomy. Schistosomiasis can cause, in addition to alterations in the immune system, damage to the intestine, portal and mesenteric lymph nodes. Sex and weight can influence the inflammatory response against *Schistosoma mansoni* and favor secondary infections.

OBJECTIVES: To understand the causes of co-infections, BT and considering the influence of chronic illness in resistance or susceptibility to secondary infections by components of the intestinal tract, both mice male and female with *Schistosoma*, such as those undergoing splenectomy or not.

MATERIALS AND METHODS: Swiss webster mice (*Mus musculus*) (40female/40male) with 35 days after birth were divided into two groups: schistosomiasis (20female/20male) and controls (20female/20male). Ninety days after cercarial exposure, 20 mice with schistosomiasis (10female/10male) and 20 controls (10female/10male) underwent conventional splenectomy. The animals were weighed after 35, 80 and 125 to 132 days after birth, when they were euthanized for study of bacterial translocation, analysis of the microbiota and intestinal morphology. For the study of TB, had collected peripheral blood and from the portal vein, fragments of organs and lymph nodes. For microbiology, feces were collected from middle region of the small intestine. Segments of this region were sectioned transversely and longitudinally for morphometric analysis.

RESULTS: Comparison between schistosomiasis and control mice, the infected females had a higher parasite burden and spleen index. There was a decrease in weight during schistosomiasis ($p < 0.05$), which showed greater variety and quantity of bacteria in the stool. There was a reduction in height and villus area and perimeter of the mucosal surface in the schistosomiasis group ($p = 0.004$, 0.003 and < 0.001 , respectively). In cultures, the control showed negativity in blood, liver and spleen, and 30% (20%females/10%males) positivity in lymph nodes. All schistosomal females showed bacteria in mesenteric lymph nodes, 60% in portal blood, 50% in liver/spleen, and 30% in peripheral blood. The mesenteric lymph nodes of 70% of males with schistosomiasis were positive, portal blood (30%), liver/spleen (20%) and none in peripheral blood.

In relation to splenectomized mice, males and females had reduced weight gain, the 125th of the 132 days after birth ($p < 0.0001$), had higher prevalence of positive fecal cultures, both with respect to bacterial density by species, on the number of colony forming units (CFU). Morphometric analysis revealed duodenal reduction in height and area of the villi of male

and female splenectomized compared with respective controls ($p < 0.0001$). Splenectomized males had higher rates of BT. **In comparing the mice with schistosomiasis splenectomized and non-splenectomized**, a greater weight reduction in schistosomal ($p < 0.0001$). In the study of intestinal microbiota, was observed approximately the same amounts of colonies when comparing these groups, with difference only for *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Klebsiella pneumoniae*. There was no reduction in height and villu area and perimeter of the mucosal surface between splenectomy schistosomal and non-splenectomized schistosomal. Splenectomized mice with schistosomiasis were relatively weak and higher rates of BT and sepsis, including two bacterial species, gram-positive and gram-negative. **CONCLUSIONS:** Chronic schistosomiasis alters the weight, morphometry and intestinal tract of mice and may promote translocation, migration and sepsis, especially in females, which may relate to higher parasitism and immunological changes. In addition, asplenia increases susceptibility to BT, and consequently, diseases of septic origin. The weight, gender, intestinal microbiota and changes in duodenal morphometry may influence the occurrence of this phenomenon.

KEYWORDS: schistosomiasis, splenectomy, bacterial translocation, sepsis, mesenteric lymph nodes.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	30
3. HIPÓTESES.....	59
4. OBJETIVOS.....	61
5. ANIMAIS, MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
6. ARTIGOS.....	76

ARTIGO I - INFECÇÕES BACTERIANAS NA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Resumo.....	77
Introdução.....	78
Métodos.....	78
Resultados e Discussão.....	80
Considerações finais.....	92
Summary.....	93
Referências.....	94

ARTIGO II - ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA INTESTINAL E MORFOMETRIA DUODENAL COMO FATORES PARA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NA ESQUISTOSSOMOSE CRÔNICA EXPERIMENTAL

Resumo.....	100
Abstract.....	100
Introdução.....	101
Métodos.....	102
Resultados.....	105
Discussão.....	110
Referências.....	115

ARTIGO III - FATORES PREDITIVOS PARA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA E SEPSE EM CAMUNDONGOS À ESPLENECTOMIA TOTAL.

Resumo.....	121
Abstract.....	121
Introdução.....	122
Métodos.....	123
Resultados.....	126
Discussão.....	131
Referências.....	134

ARTIGO IV - SEPSE PÓS-ESPLENECTOMIA NA ESQUISTOSSOMOSE CRÔNICA COMO CONSEQUÊNCIA DA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA

Resumo.....	138
Abstract.....	138
Introdução.....	139
Métodos.....	140
Resultados.....	144
Discussão.....	150
Referências.....	154
7. CONCLUSÕES.....	158
8. COMENTÁRIOS E PERSPECTIVAS.....	161
9. REFERÊNCIAS.....	164

1. INTRODUÇÃO

"Seja a mudança que você deseja ver no mundo."

Mahatma Gandhi

1. INTRODUÇÃO

Translocação é a passagem de micro-organismos viáveis ou endotoxinas através da mucosa e lamina própria do trato digestório para os linfonodos mesentéricos e outros órgãos (WIEST, RATH, 2003). Esse fenômeno tem sido associado à candidemias, bacteremias e a síndrome da falência de múltiplos órgãos e sistemas (NIKITENKO, STADNIKOV, KOPYLOV, 2011). Os mecanismos que controlam a translocação dependem de múltiplos fatores relacionados ao micro-organismo e ao hospedeiro. Acredita-se que, para ocorrer à passagem de bactérias e endotoxinas da luz intestinal para corrente sanguínea, haja necessidade da existência isolada ou em conjunto de uma queda da imunidade do paciente, uma alteração da microbiota e também, uma quebra da barreira defensiva da mucosa intestinal (MARCHETTI et al., 2011; NIEVES et al., 2011).

No caso das bactérias aeróbias gram-negativas, a translocação pode ocorrer com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. As anaeróbias translocam apenas em situações em que o intestino se encontra estruturalmente danificado. Além disso, bactéria intestinal pode causar doença sistêmica em indivíduos imunodeprimidos sem outras condições associadas. Levando a crer que disfunção imune promove primariamente translocação bacteriana (WIEST, RATH, 2003). Para fungos, o processo de passagem de micro-organismos também pode ser porta de entrada para candidemia e choque séptico, principalmente em pacientes imunodeprimidos (COLOMBO et al., 1996; NUCCI, ANAISSIE, 2001; SUZUKI et al., 2007). Contudo, a translocação de leveduras via trato digestório ainda não está totalmente estabelecida.

A esquistossomose, como agente facilitador de doenças bacterianas, encontra-se bem documentada na associação com gram-negativos (BOURÉE, BOTTEREL, ROMAND, 2002; MUNIZ-JUNQUEIRA, TOSTA, PRATA, 2009). Porém, alguns estudos descrevem a interação da esquistossomose com bactérias gram-positivas (TEXEIRA et al., 2001; SANCHEZ-OLMEDO et al., 2003) e com micobactérias (ELIAS et al., 2005). Os esquistossomóticos podem apresentar drenagem prejudicada por ação mecânica, traumática, irritativa e espoliativa dos parasitos adultos que se alimentam de sangue e obstruem os vasos. A ação traumática dos vasos mesentéricos deve-se também aos ovos espiculados que os atravessam pelo intestino e são expelidos nas fezes (WILSON, 2009). Na literatura pesquisada, apesar dos inúmeros relatos sobre doenças bacterianas em esquistossomóticos, não foram encontrados trabalhos que esclareçam as dúvidas a respeito da presença da translocação microbiana, infecção e sepse na

esquistossomose mansônica. Mesmo sabendo que o último pode provocar, além de alterações no sistema imunológico, dano ao intestino, sistema porta e linfonodos mesentéricos. Em 2005, FERRAZ et al., evidenciaram a prevalência de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos de pacientes com a doença crônica; e concluem que presença bacteriana poderia ser consequência da translocação, processo crucial nas complicações infecciosas pós-operatória.

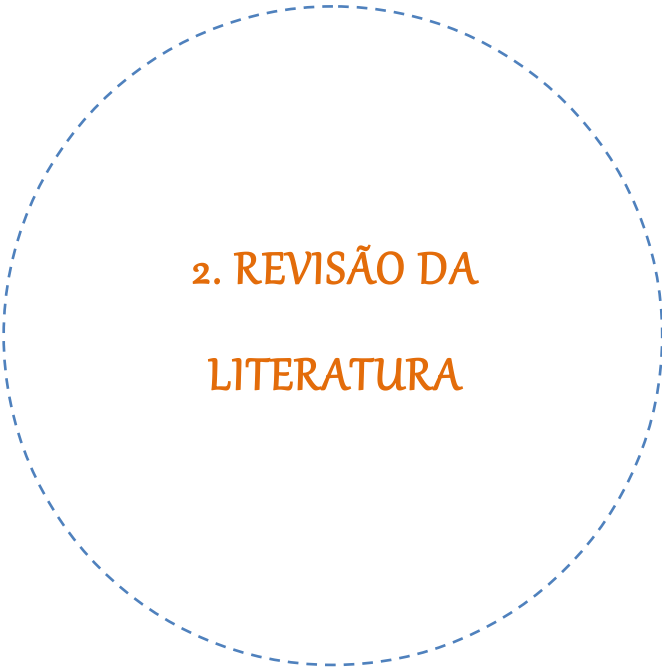
Em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* foi demonstrado à secreção de citocinas Th1 pelas células hepáticas antes da postura dos ovos, com aumento da Th2 devido à presença de antígenos dos ovos, com decréscimo na secreção de IFN- γ e IL-2, coincidindo com elevação de IL-4 e IL-5 (CALDAS et al., 2008; SCHRAMM, HASS, 2010). A IFN- γ estimula a destruição intracelular de micro-organismos pelas células fagocíticas, assim, a resposta Th1 constitui resposta normal às infecções bacterianas, fúngicas e virais conferindo resistência (CARVALHO et al., 2003; LEVINSON, 2010). Ao contrário, a resposta Th2 associa-se com hipersensibilidade, pois a IL-4 estimula a produção de IgE pelas células B e a IL-5, a proliferação de eosinófilos (PEARCE, MACDONALD, 2002). Desta forma, na esquistossomose crônica ocorre predomínio da resposta imunológica do perfil Th2, que se sobressai à resposta Th1, que poderia provocar imunodeficiência relativa e facilitar a translocação bacteriana.

As evidências de imunodepressão provocadas pela esquistossomose em modelo experimental sempre foi objetivo em pesquisas (FERRAZ et al., 1993; ELIAS et al., 2005). Em contra partida, alguns trabalhos demonstram que o aumento dos níveis de IgM e IgG na forma hepatoesplênica, pode ser, pelo menos parcialmente, responsável pela maior resistência à sepse em esquistossomóticos (KELLERMEYER et al., 1973; CAPRON, DESSAINT, 1992). Mesmo após a esplenectomia, os pacientes não desenvolvem quadros sépticos graves, principalmente no período pós-operatório, assim como não há registro de tais complicações, de forma significativa, durante a história de sua afecção (PETROIANU, PETROIANU, 2003). Na literatura, a única explicação para esse fato é que mesmo na ausência do baço, as defesas imunológicas dos pacientes parecem ser preservadas (PETROIANU, ANTUNES, 2003). Entretanto, para BRANDT et al. (2005), a esplenectomia parece remover uma fonte importante de macrófagos/monócitos do local de processamento de reações imunes. A produção reduzida de O₂ em esplenectomizados pode ser um dos fatores implicados na resposta deficiente do hospedeiro as infecções. Desta forma, não se sabe ao certo se a esquistossomose favorece a translocação microbiana e sepse ou se, em virtude de sua

resposta imunológica característica, protege o hospedeiro vertebrado contra esse processo e suas consequências.

Sabe-se que o sistema endócrino pode influenciar o curso da infecção parasitária por modular o sistema imune, mas também pode ser explorado pelo parasito, para manter sua sobrevivência (ESCOBEDO et al., 2005). Em virtude destes fatos, a habilidade dos hormônios em afetar o sistema imunológico dirigido contra agentes infecciosos tem recebido maior atenção. A infecção por *S. mansoni* diminui as concentrações plasmáticas de LH e testosterona, fazendo com que os homens apresentem elevada resposta pró-inflamatória, resposta humoral, perfil Th1 e Th2. Consequentemente, estes indivíduos apresentam maior resposta inflamatória contra *S. mansoni*, desenvolvendo a forma mais grave da doença, com sintomas como hepatoesplenomegalia (REMOUE et al., 2001; NAUS et al., 2003).

Diante do grande número de pacientes esquistossomóticos na fase crônica; bem como a existência das evidências sobre a associação com infecções bacterianas, torna-se clara a necessidade do desenvolvimento de estudos que visem auxiliar a elucidação das alterações provocadas pelo *S. mansoni* no hospedeiro vertebrado. Faz-se indispensável à compreensão a respeito das causas das coinfeções, considerando a translocação bacteriana e a influência da doença crônica na resistência ou susceptibilidade as infecções secundárias por componentes da microbiota intestinal, tanto em esquistossomóticos machos ou fêmeas, como naqueles submetidos ou não a esplenectomia.



2. REVISÃO DA LITERATURA

*“Os pescadores sabem que o mar é perigoso e a tormenta, terrível.
Mas este conhecimento não os impede de fazer-se ao mar.”*

Vincent Van Gogh

2.1 ESQUISTOSSOMOSE

2.1.1 Aspectos epidemiológicos

Dentre as esquistossomoses, a mansônica, helmintíase do sistema vascular mesentérico, causada pelo *Schistosoma mansoni*, é considerada a mais importante por sua grande disseminação. No Brasil, essa endemia se constitui em um dos mais sérios problemas de saúde pública (KATZ, ALMEIDA, 2003). A área endêmica mais importante está localizada em uma faixa de terra contínua ao longo do litoral, atingindo os estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe na região Nordeste, Espírito Santo e Minas Gerais na região Sudeste (BRASIL, 2009). Estima-se que 25 milhões de pessoas vivem em áreas sob risco de contrair a doença. Segundo a Portaria da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS), acredita-se que o número de pessoas infectadas seja muito maior que o número de casos registrados, apesar de ser uma doença de notificação compulsória nas áreas não endêmicas (TELES, 2005; BRASIL, 2009).

A mortalidade por esquistossomose mansônica ocorre, principalmente, em decorrência das manifestações clínicas da fase crônica da doença. FERREIRA, SILVA (2007), que analisou os dados obtidos no Brasil entre os anos de 1980 e 2003, revelou redução de 62,9% na mortalidade, porém essa redução não foi uniforme ao longo dos anos, sendo a região Nordeste aquela que concentrou a maior distribuição percentual dos óbitos (62,3%). Estudo realizado por RESENDES et al. (2005) mostra redução da gravidade da esquistossomose, confirmada pela diminuição do número de internações hospitalares e óbitos pela doença, o que não significa dizer que essa endemia está sob controle em Pernambuco. Inquérito realizado na Zona da Mata, em 2006, detectou prevalência média de 14,4% para esse Estado (BARBOSA et al, 2006). No período de 1998 a 2007, a presença de parasitados foi observada em 19 unidades federadas, em todas as regiões do país, com uma média de 1.059 internações e 491 óbitos (CARMO, 2009). Já em 2009, dos 496 casos de óbitos por esquistossomose no Brasil, 323 foram no Nordeste, principalmente em Pernambuco (153 casos), significando prevalência média de 30,8% (BRASIL, 2011) (FIGURA 1).

Apesar de algumas ações de controle para esquistossomose serem realizadas no Brasil, os danos físicos gerados por essa doença ainda incapacitam grande número de

pessoas em todo o país, principalmente no Nordeste (FERREIRA, SILVA, 2007). ARAÚJO et al., (2006) detectaram 12 casos de mielorradiculopatia esquistossomótica atendidos no Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (IMIP) entre 2000 e 2004. Desde a década de 1990, tem-se observado a expansão da esquistossomose para áreas urbanas litorâneas e Região Metropolitana do Recife (RMR), com quatro casos agudos da doença registrados na Praia de Itamaracá (GONÇALVES et al., 1992; BARBOSA et al., 2000; BARBOSA et al. 2004), e um surto epidêmico na Praia de Porto de Galinhas, com 662 casos da forma aguda da doença (BARBOSA et al., 2001), além dos focos de moluscos vetores que vêm surgindo no litoral e RMR (SAMICO, 1989).

Desta forma, fazem-se necessários, associado às medidas de controle, novos estudos no sentido de melhor se conhecer a infecção e a dinâmica das interações hospedeiro-parasito. Além disso, entender a associação com outros processos infecciosos, a fim de obter estratégias que busquem novos instrumentos de controle da doença e de suas ações no organismo humano; e assim, diminuir a morbidade e mortalidade pelo agente.

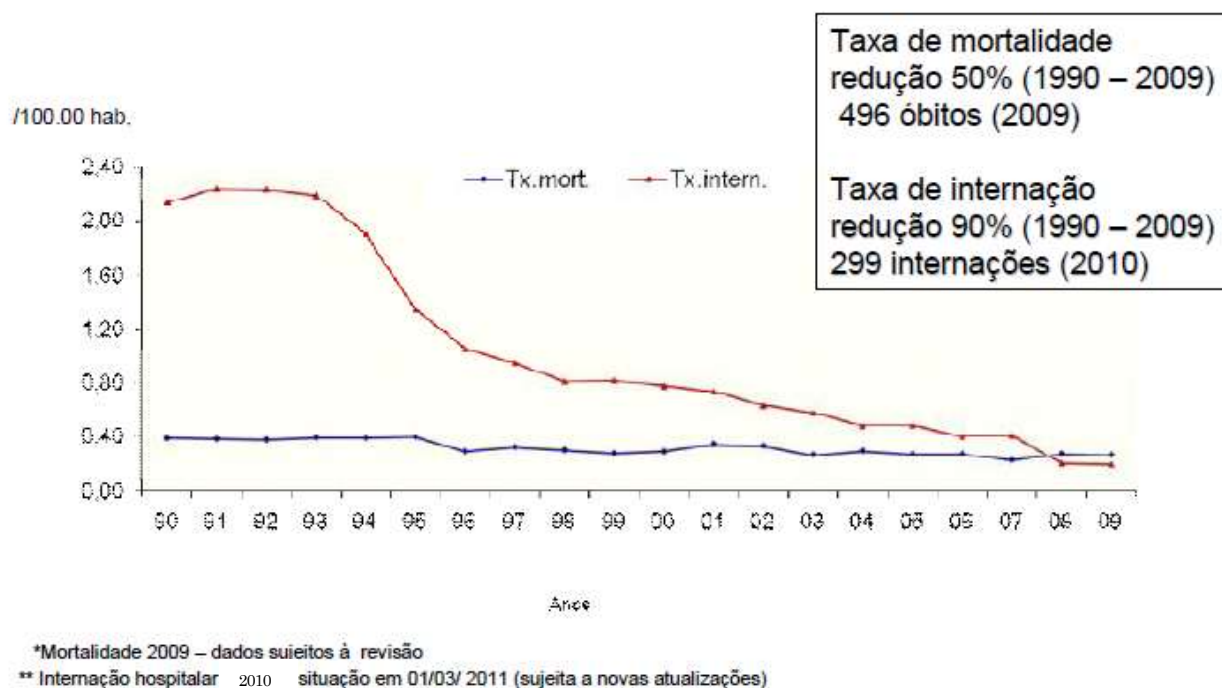


FIGURA 1 – Taxa de mortalidade e internação por esquistossomose. Brasil 1990-2010

FONTE: MS/SIM, SIH/SUS

2.1.2 Ciclo biológico

O ciclo evolutivo do *S. mansoni* é formado por duas fases, uma que ocorre no hospedeiro intermediário, caramujo *Biomphalaria*, e outra que ocorre no hospedeiro definitivo, homem ou outro vertebrado (FIGURA 2). Este helminto possui um complexo ciclo de vida, no qual interage extremamente com seus respectivos hospedeiros e com o meio ambiente em que vive. As fases evolutivas consistem em ovo, miracídio, esporocistos, cercária, esquistossômulo e verme adulto, sendo o miracídio e a cercária as duas formas larvárias de vida livre no meio aquático (FIGURA 3). Os vermes adultos habitam preferencialmente as vênulas do plexo hemorroidário inferior e as ramificações das veias mesentéricas do hospedeiro vertebrado, especialmente a mesentérica inferior, onde migram para submucosa intestinal, e a fêmea faz a oviposição. Cada fêmea põe, em média, 300-400 ovos/dia, os quais levam cinco dias para amadurecer (NEVES et al., 2005).

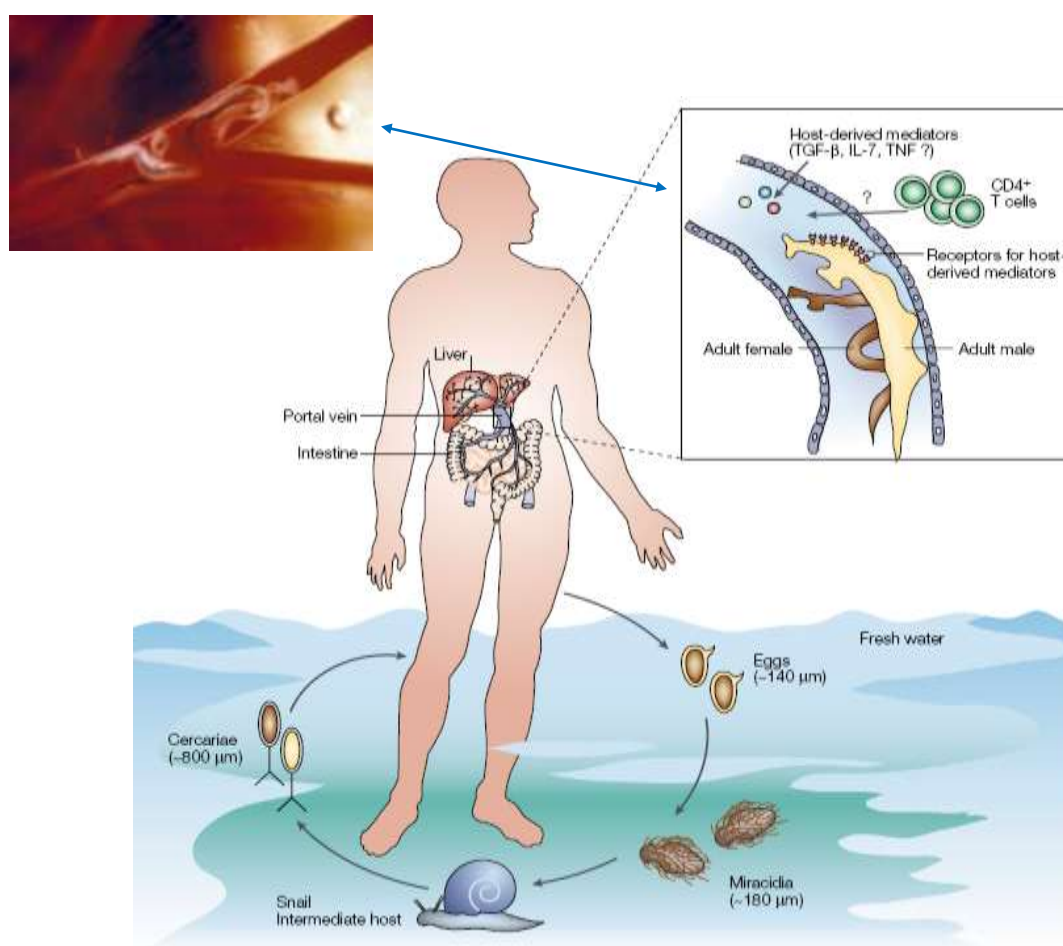


FIGURA 2 - Ciclo biológico da Esquistossomose.

FONTE: Adaptado de PEARCE, MACDONALD, 2002.



FIGURA 3 – Fases evolutivas do *Schistosoma mansoni*. **A.** Ovo de *S. mansoni* em tecido hepático. **B.** Miracídio. **C.** Cercária. **D.** Verme adulto.

FONTE: SCIENCE PHOTO LIBRARY.

Parte dos ovos atravessam a parede dos vasos, a lâmina própria do epitélio intestinal, chegando à luz do intestino, em um período de seis dias, e são eliminados junto com as fezes. No momento em que as fezes entram em contato com coleções de água, sob influência de luminosidade, temperatura e oxigenação, os ovos maduros eclodem, liberando o miracídio, que nada ativamente ao encontro do hospedeiro invertebrado (gênero *Biomphalaria*). Ao penetrar nas partes moles do caramujo, o miracídio sofre uma reorganização celular, dando origem aos esporocistos, que por poliembrionia, origina os esporocistos-filhos, e estes tem a capacidade de originar cercárias e outros esporocistos-filhos (CARVALHO, COELHO, LENZI, 2008). Um único miracídio pode formar de 100 a 300 mil cercárias, com sexo determinado (OLDS, DASARATHY, 2000).

Os moluscos iniciam a eliminação das cercárias 4-6 semanas após a infecção, pela formação de vesículas em seu epitélio. As cercárias penetram ativamente pela pele ou mucosas íntegras do hospedeiro que esteja em contato com a água, através da ação lítica de enzimas e pela ação mecânica dos seus movimentos. Após atravessarem a pele, os

corpos cercarianos passam por uma série de mudanças morfológicas, bioquímicas e antigênicas, passando a ser chamado de esquistossômulo, último estágio larvário do parasito. Os esquistossômulos penetram nos vasos sanguíneos e linfáticos e aqueles que não forem eliminados pelo sistema imunológico do hospedeiro migram para os pulmões, de onde são distribuídos para os outros órgãos. A maioria deles alcança o fígado, onde atinge a maturidade sexual no sistema venoso portal. Neste local, os vermes acasalam e migram para as veias mesentéricas onde iniciam a oviposição, completando assim, o ciclo evolutivo do *S. mansoni* (WILSON et al., 2007; CARVALHO, COELHO, LENZI, 2008).

No hospedeiro vertebrado, o verme adulto vive em média, 3-5 anos, mas pode alcançar 30 anos. O ciclo sexuado ocorre em cerca de 45 dias, e vai desde a penetração das cercárias até a eliminação de ovos nas fezes. O potencial teórico de reprodução de um par de vermes é de aproximadamente 600 bilhões de parasitos (GRYSSELS et al., 2006). No hospedeiro intermediário, o ciclo é assexuado, e a duração é aproximadamente a mesma da fase sexuada (KATZ, ALMEIDA, 2003).

2.1.3 Manifestações clínicas

Os sintomas apresentados pela esquistossomose dependem da cepa, carga parasitária, idade, estado nutricional e resposta imune do paciente (NEVES et al., 2005). A esquistossomose se desenvolve em duas fases, aguda e crônica. Esta última pode apresentar três formas clínicas: intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica (REY, 2001). Logo após o contato infectante, alguns indivíduos se queixam de manifestações pruriginosas na pele, dermatite cercariana, decorrente da morte de até metade das cercárias que penetraram na pele, com intensidade e duração de 24-72 horas pós-infecção, podendo estender-se por 15 dias; muitas vezes não reconhecidas em áreas endêmicas (BOTTIEAU et al., 2006). O desaparecimento dos sinais cutâneos corresponde ao período de incubação, que pode durar de 4 a 8 semanas, quando há o desenvolvimento dos esquistossômulos (DOMINGUES, DOMINGUES, 1994).

O paciente pode desenvolver a fase aguda da doença, caracterizada por febre alta, mal estar, astenia, urticária, tosse, anorexia, náuseas, vômitos, mialgias, cefaléia e diarreia. Em virtude desses sintomas também ocorrerem em várias outras doenças infecciosas e parasitárias, o quadro clínico pode não sugerir o diagnóstico. O exame físico pode detectar abdome distendido e doloroso, com fígado e baço aumentados (LAMBERTUCCI, 2010).

Essas manifestações da fase aguda não são evidenciadas em moradores de áreas endêmicas, que apresentam a forma assintomática da doença, ela é mais comum em turistas, viajantes e pessoas expostas acidentalmente à transmissão (HATZ, 2005). A fase aguda pode durar, em média, 30 a 60 dias, desaparecendo quando o paciente é submetido a tratamento específico ou podendo evoluir para a fase crônica, caso não haja tratamento (LAMBERTUCCI, 2010).

A fase crônica não ocorre devido aos vermes adultos, mas sim aos ovos que se prendem aos tecidos durante a migração peri-intestinal; ou após embolização do fígado, baço, pulmões e sistema cérebro-espinhal, provocando inflamação eosinofílica e reação granulomatosa, que gradativamente dá lugar a depósitos fibróticos (CHEEVER et al., 2000). A doença resulta de deposição maciça de colágeno nos espaços periportais, induzindo a Fibrose de Symmers. Quando há comprometimento das funções e aumento do volume do fígado e do baço, ocorre a forma hepatoesplênica da doença, na qual são observadas alterações anatômicas, fisiopatológicas e clínicas, resultantes das lesões teciduais provocadas pelos ovos do parasito (MELO, COELHO, 2005). Nessa fase, há pacientes que permanecem na sua forma clínica estacionária ou compensada, conservando um bom estado geral, com sintomatologia de pequena intensidade. Outros, porém, evoluem para as formas mais graves ou descompensadas apresentando bloqueio intenso, causados pelo grande número de depósitos fibróticos, que reduz o fluxo sanguíneo do território drenado pela veia porta. O baço aumenta de volume, em grande parte devido à congestão da veia esplênica do sistema porta, bem como devido à hiperplasia das células do sistema macrofágico-linfocitário, com diferenciação plasmocitária e produção de imunoglobulinas, em virtude da presença de grande quantidade de substâncias antigênicas (REY, 2001). Em infecções por *S. mansoni*, o processo fibrótico pode levar de 5-15 anos (DESSEIN et al., 1999) (FIGURA 4).

A doença ainda pode acarretar lesões cardiopulmonares e glomerulonefrite (BARSOUM et al., 2004). Lesões no aparelho reprodutor de homens e de mulheres também ocorrem em áreas endêmicas, facilitando a transmissão sexual de outras doenças e podendo induzir infertilidade (POGGENSEE, FELDMEIER, 2001). Em revisão bibliográfica, acerca das ocorrências de casos agudos e crônicos da doença no Brasil, de 1997 a 2006, evidenciou-se a escassez de pesquisas com enfoque nas formas clínicas da esquistossomose mansônica, o que denota falta de interesse ou de estímulo à investigação sobre o tema, por parte da comunidade científica. Como consequência, existe pouca

repercussão sobre a gravidade da doença esquistossomótica no Brasil e reduzidas políticas de investimentos em saneamento básico e ambiental. Tais políticas teriam o poder de minimizar a ocorrência desse agravo, melhorando a qualidade de vida das populações menos favorecidas (PORDEUS et al., 2008) (FIGURA 5).

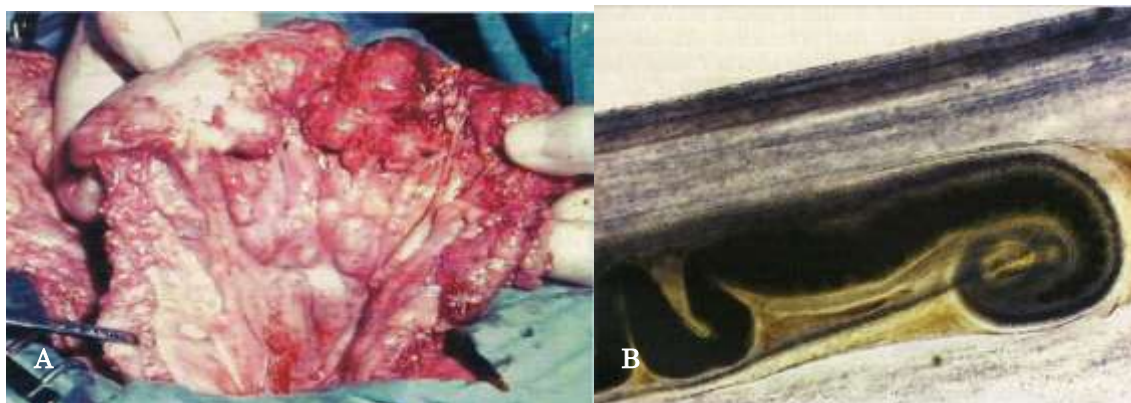


FIGURA 4 - Mesentério na Esquistossomose. **A.** Presença de vários nódulos observados no mesentério e epiplon de paciente jovem com esquistossomose crônica durante laparotomia exploratória. **B.** Veia mesentérica de camundongo Swiss webster contendo casal de vermes aduto.

FONTE: CARVALHO, COELHO, LENZI, 2008.

2.1.4 Imunomodulação

Os linfócitos, células da resposta imune adaptativa que reconhecem e respondem especificamente a antígenos estranhos, são constituídos por subpopulações bem distintas quanto as suas funções e produtos protéicos, ainda que todos pareçam morfologicamente semelhantes. Estas subpopulações correspondem aos linfócitos B, células produtoras de anticorpos, e os linfócitos T, mediadores da imunidade celular. Os linfócitos T se encontram subdivididos em populações distintas quanto à função, das quais, as mais bem definidas são as células T auxiliares (Th) ou CD4⁺ e as células T citotóxicas ou CD8⁺ (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2008). O perfil Th1 está relacionado à secreção das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α , INF- γ e IL-2), estando envolvida na formação de infiltrado rico em neutrófilos polimorfonucleares (PMN), ativação de macrófagos, proteção contra bactérias intracelulares, eliminação de vírus e fungos, além da formação de granulomas. Por outro lado, no perfil Th2 são produzidas IL-4, IL-5, IL-6,

IL-10 e IL-13, que estão implicados, essencialmente, nas respostas imunológicas alérgicas, proteção contra infecções helmínticas, e caracterizado por infiltrados ricos em eosinófilos, mastócitos e por aumento da síntese da IgE (STOCKINGER, BOURGEOIS, KASSIOTIS, 2006; ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2008).

Estado	Forma aguda	Forma crônica	
		Hepatoesplênica	Neuroesquistossomose
Paraíba			Brito JFC e cols., 2003 ³⁹
Pernambuco	Barbosa CS e cols., 2001a ¹⁸ Barbosa CS e cols., 2001b ¹⁹	Brandt CT e cols., 2003 ²⁴ Mesquita GV e cols., 2004 ²⁵ Brandt CT e cols., 2001 ²⁶ Brandt CT e cols., 2000 ²⁷ Mota LAA e cols., 2003 ²⁸ Melo AAR e cols., 2003 ²⁹ Matos MAG, 2003 ³⁰ Brandt FT e cols., 2003 ³¹ Albuquerque CDC e cols., 2000 ³²	Araújo e cols., 2006 ⁴⁰
Bahia	— — — —	Andrade ZA e cols., 1999 ³³ Andrade ZA, 2004 ³⁴ Andrade ZA, 1998 ³⁵ Bina JC e cols., 2003 ³⁶	Nascimento-Carvalho CM e cols., 2005 ⁴¹ — —
Minas Gerais	Lambertucci JR e cols., 1997 ³⁸ Enk MJ e cols., 2003 ³⁹ Lambertucci JR e cols., 2005 ⁴² Andrade Filho JS e cols., 1998 ⁴³ — — —	— — — — — —	Nobre V e cols., 2001 ⁴² Ferrari TCA, 2004 ⁴³ Silva LCS e cols., 2004 ⁴⁴ Silva JH e cols., 2003 ⁴⁵ Silva LCS e cols., 2002 ⁴⁶ Martins Junior e cols., 2003 ⁴⁷ Santos EC e cols., 2001 ⁴⁸
São Paulo		Cleva R e cols., 2004 ³⁷ Figueiredo CM, 2003 ³⁵	Paz JA e cols., 2002 ⁴⁹ Peregrino AJP e cols., 2002 ^{50 (a)} Tedrus GMAS e cols., 1999 ⁵¹

FIGURA 5 - Distribuição dos artigos sobre esquistossomose segundo Estados brasileiros e formas clínicas (Lilacs, PubMed-MEDLINE e SciELO), entre janeiro de 1997 e dezembro de 2006.

FONTE: PORDEUS et al., 2008.

Na esquistossomose murina, a patologia é causada pelo perfil Th2, que aumenta em virtude da resposta granulomatosa dirigida contra ovos do *S. mansoni* alojados no fígado. Citocinas da resposta Th2, como IL-4 e IL-13, induzem esta resposta, enquanto

que a IL-10, IL-13, $\alpha 2$, IFN- γ e subconjunto de células T regulatórias (Tregs) limitam a patologia causada pelo *S. mansoni* (PEARCE, MACDONALD, 2002) (FIGURAS 6). Assim, a IL-10, produzida principalmente pelos clones Th2 foi associada à supressão da resposta Th1, sendo, portanto o perfil da resposta Th2 associado à proteção e geração de cronicidade das infecções esquistossomóticas por controlar a resposta granulomatosa ao redor dos ovos (STADECKER, FLORES VILLANUEVA, 1994) (FIGURAS 7). Contudo, carboidratos de glicoproteínas imunogênicas do ovo podem estimular a produção de imunoglobulinas das subclasses IgG2 que caracteriza o perfil Th1 (LANGLEY et al., 1994).

Segundo ARAÚJO (1997), que avaliou o fenômeno de imunossupressão específica em esquistossomóticos crônicos, células mononucleares de sangue periférico de 64% dos pacientes apresentaram baixa resposta linfoproliferativa, e nenhum deles produziu IFN- γ para antígenos do *Schistosoma* “in vitro”. Por outro lado, estas células produziram IL-4, IL-5 e IL-10 em resposta ao antígeno de verme adulto, demonstrando expansão dos linfócitos Th2. O mesmo padrão de citocinas foi observado por GRZYCH et al. (1991) estudando células esplênicas de camundongos infectados com *S. mansoni*.

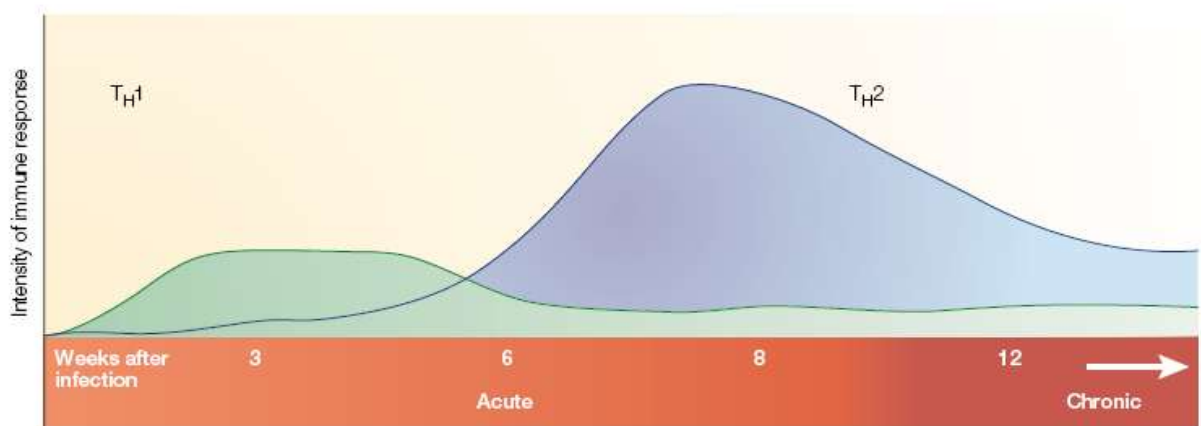


FIGURA 6 - Desenvolvimento da resposta imune durante a infecção pela esquistossomose.

FONTE: PEARCE, MACDONALD, 2002.

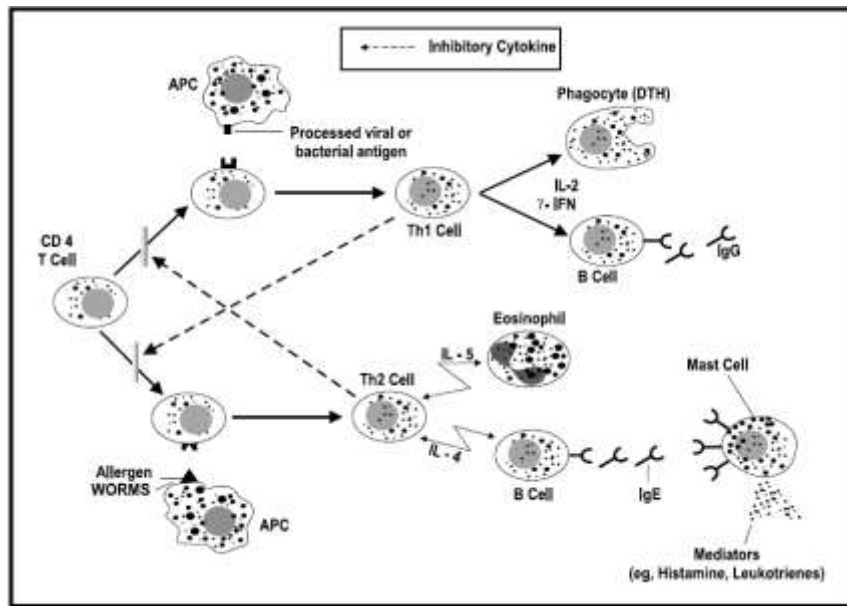


FIGURA 7 - Equilíbrio entre o padrão Th1/Th2 da resposta imune. APC = células apresentadoras de antígenos; DTH = hipersensibilidade retardada.

FONTE: LAMBERTUCCI et al., 2001.

Dados da literatura indicam que a IL-10 é citocina amplamente regulatória, pois se opõe à síntese de IFN- γ e IL-2, que são importantes para a proliferação de células T e a ativação de macrófagos. A inibição da síntese dessas citocinas pela IL-10 parece ser indireta, ou seja, ela agiria sobre as células apresentadoras de antígenos (APC), especialmente monócitos e macrófagos, inibindo a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal do tipo II (MHC classe II) e co-estimulatórias como B7-2, o que resultaria na ausência, ou diminuição, da apresentação dos antígenos e, por conseguinte, falta de ativação celular e ausência na produção de IL-2 e IFN- γ (MOORE et al., 2001). O efeito da intensidade de infecção pelo *S. mansoni* sobre a produção de IFN- γ , IL-10 e IL-13 por PMN de indivíduos residentes em área endêmica para este helminto foi avaliado por SILVEIRA et al. (2004). Estes autores observaram que os níveis de IFN- γ diminuem gradualmente com o aumento da intensidade da infecção, que é decisiva para a produção de IL-10 e dominância da resposta Th2. Outro mecanismo relacionado à inibição da síntese de IFN- γ por IL-10 é que esta citocina é capaz de inibir a síntese de IFN- γ pelas células *Natural Killers* (NK), mecanismo importante para a derivação da resposta imunológica para o tipo Th1 (KOS, ENGLEMAN, 1996).

Estudos demonstraram que a indução de Th1 e Th2 requerem envolvimento inicial das células dendríticas, que são APC derivadas da medula óssea. As células dendríticas são as únicas capazes de capturar, transportar, processar e apresentar antígenos aos linfócitos virgens para iniciar a resposta imune adaptativa (SHORTMAN, LIU, 2002). Embora os mecanismos pelos quais os patógenos virais, bacterianos ou protozoários interajam e ativem as células dendríticas estejam cada vez mais compreendidos, pouco se sabe sobre como essas células reagem a organismos mais complexos, tais como *Schistosoma*. Estudos têm investigado o impacto das células dendríticas sobre os antígenos de diferentes fases da vida do ciclo do *S. mansoni* e revelaram um fenótipo de célula dendrítica bastante distinto ao de ativação convencional (WAKKACH et al., 2003; STEINFELDER et al., 2009).

Outras células envolvidas na imunomodulação são as Tregs, categorizadas em dois subtipos, as naturais e as adaptativas. As Tregs naturais se originam no timo, expressam o FoxP3 (“Forkhead Box P3” – fator de transcrição que controla o desenvolvimento e a função das células Tregs), exibem um vasto repertório de receptores (“T cell receptor” – TCR) voltados para o reconhecimento de antígenos próprios e, pelo menos “in vitro”, desempenham suas funções por mecanismos independentes de citocinas, envolvendo interações diretas célula-célula (HSIEH et al., 2006). Por outro lado, as células Tregs adaptativas (que incluem as Th3 e Tr1) podem ou não expressar o FoxP3, são induzidas na periferia e produzem citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF- β , que podem modular negativamente a resposta imune (TANG, BLUESTONE, 2006). Um perfil característico de células regulatórias do tipo Th3, produtora de IL-10/TGF- β foi encontrado em resposta à injeção de ovos de *S. mansoni* (MACGUIRK, MILLS, 2002; SEWELL et al., 2003). MCKEE, PEARCE (2004) relataram que a supressão de Th1 em camundongos esquistossomóticos está relacionada com a produção de células T CD4+, que diferem entre si na expressão da molécula CD25. As células CD4+CD25+, são as Tregs naturais (FoxP3+) e produzem exclusivamente IL-10 que pode inibir a produção de IL-12 pelas células dendríticas e parecem ser necessárias para manutenção da resposta Th2.

É interessante notar que a essencial participação da IL-10, tendo como fonte a produção de células Tregs sob estímulo de antígenos de ovos, não foi evidenciada (TAYLOR, MOHRS, PEARCE, 2006). Este dado sugere a participação de outros

mecanismos para o controle da resposta Th1 e Th2 pelas células Tregs no processo de imunomodulação presente na esquistossomose.

2.1.5 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da esquistossomose ocorre através da observação dos ovos do parasito nas fezes (padrão-ouro), ou pela detecção de anticorpos anti-*Schistosoma* em testes imunológicos (FELDEMEIER, POGGENSEE, 1993). A observação dos ovos do parasito é realizada com análise qualitativa ou quantitativa. A análise qualitativa é feita através da sedimentação espontânea dos ovos, método de Lutz ou método de Hoffman, Pons e Janer (LUTZ, 1919; HOFFMANN, PONS, JANER, 1934). A avaliação quantitativa da carga parasitária, pelo método Kato-Katz, que se dá com a clarificação da amostra fecal por glicerina e água, facilitando a visualização dos ovos (KATO, 1960; KATZ, CHAVES, PELLEGRINO, 1972). O método Kato-Katz é comumente utilizado na pesquisa, pois permite a quantificação da infecção pela contagem dos ovos, usualmente expressas por grama de fezes (ENGELS et al., 1996).

O oograma é utilizado para contagem de ovos de acordo com seu estágio evolutivo. Quando as fêmeas realizam a oviposição, estes ovos estão imaturos (1º a 4º estádios), e amadurecem ao longo de seis dias, quando são eliminados junto às fezes. Se os ovos não chegam ao intestino para ser eliminados, morrem com 12 dias após maturação, e tornam-se inviáveis. Desta forma, o oograma é muito utilizado para avaliação de novas drogas, pois assim sua atividade pode ser observada em poucos dias pós-tratamento (SARVEL et al., 2006).

Os métodos imunológicos são utilizados para demonstrar a resposta do organismo hospedeiro à presença de antígenos do parasito, devido à existência de anticorpos ou reações alérgicas. Estes ensaios são sensíveis, porém não distinguem história de exposição de infecção ativa, além disso, pode haver reação cruzada contra helmintos, não sendo facilmente utilizados na pesquisa (GRYSSELS et al., 2006). As técnicas mais empregadas são: reação de fixação do complemento, reação periovular, reação cercariana, imunofluorescência indireta, ELISA e reação intradérmica (teste alérgico) (REY et al., 2001; NEVES et al., 2005).

2.2 ESPLENECTOMIA

O baço é um órgão de consistência mole, muito vascularizado, de coloração púrpura e com relativa mobilidade. Normalmente, apresenta grande variabilidade de tamanho, forma e peso. Anatomicamente, localiza-se no hipocôndrio esquerdo, na região sub-frênica relacionada com as IX, X e XI costelas. Entretanto, em 10% dos casos, o baço pode ter localização ectópica devido ao não desenvolvimento de seus ligamentos, podendo estar presente em qualquer parte do abdome ou da pelve (MERRAN, KARILA-COHEN, SERVOIS, 1984).

Várias funções de extrema importância no organismo são desempenhadas pelo baço. Dentre elas, a função hematopoiética, presente normalmente na vida fetal, aparecendo no adulto apenas em condições patológicas; a função imunológica, produzindo tuftsin (partícula de alfa globulina) e opsoninas relacionadas à ativação máxima dos leucócitos; a função de armazenamento de células sanguíneas no seu parênquima, com posterior liberação das mesmas na circulação, conforme as necessidades do organismo; a função de hemocaterese; a função de regulação lipídica, através do sequestro de lipídios do interior de macrófagos, além do metabolismo de bilirrubinas. O baço é o principal sítio que responde contra antígenos presentes na circulação sanguínea, sendo, portanto considerado um “filtro” do sangue (NICOLAS, 2004).

A esplenectomia é procedimento cirúrgico comum realizado principalmente em casos de trauma, mas também usado para tratar várias doenças hematológicas, imunológicas, metabólicas e oncológicas. A literatura médica menciona outras indicações para a esplenectomia como, por exemplo, hipertensão portal, infecções parasitárias e outras patologias esplênicas específicas, como hemangiomas, cistos e abscessos (TRAETOW, FABRI, CAREY, 1980; PIMPL et al., 1989; LEWIS, SWIRSKY, 1996; PHILLIPS, RADOSEVICH, LIPSETT, 1997).

A ausência do baço não era considerada como fator de complicações graves, apesar da morte por sepse após esplenectomia ser conhecida desde o final do século XIX. Esse procedimento era considerado benéfico e sem riscos para o doente. À medida que o baço foi sendo estudado, percebeu-se a inutilidade de sua retirada na maioria dos casos e a elevada morbimortalidade decorrente da asplenia a médio e longo prazo (PETROIANU, 2001; FERRAZ, 2003). Em revisão feita por SINGER (1973) de 2.796 pacientes esplenectomizados apontou para a incidência de 4,2% de sepse e mortalidade de 2,5%. O

risco de sepse grave é sessenta vezes maior após esplenectomia do que na população em geral. Essa situação é ainda pior em crianças, especialmente abaixo de dois anos de idade, em idosos e em pacientes imunodeprimidos por diferentes doenças. Estima-se em 8% a incidência de sepse fulminante nesses pacientes (SUMARAJU, SMITH, SMITH, 2001). Segundo PIMPL et al., (1989), cerca de 6% a 9% dos esplenectomizados morrem de complicações sépticas, enquanto apenas 1% a 5% dos que possuem baço vão a óbito em decorrência de infecção. Alguns estudos demonstram a sepse fulminante em pessoas jovens e previamente híginas (GUERRA et al., 1991; SAMURAJU, SMITH, SMITH, 2001; MARQUES, PETROIANU, 2003). A cirurgia nas crianças portadoras de esquistossomose mansônica inclui esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e o auto-implante de tecido esplênico no omento maior. A eficácia desse procedimento pode ser responsável pelo desaparecimento da sepse fulminante pós-esplenectomia neste tipo de paciente (BRANDT et al., 2003).

A sepse pós-esplenectomia é causada principalmente por bactérias encapsuladas, como pneumococos, meningococos e hemófilos influenza (COLE, FLAUM, 1992; NORRIS, VERGIS, YU, 1996; TENNENBERG, SEPKOWITZ, 1996). Contudo, em pacientes imunodeprimidos, incluindo os idosos, as infecções são provocadas, na grande maioria, por bactérias gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* (PETROIANU, 2003). Estudos realizados por SPAETH et al. (1990), mostraram que a esplenectomia não parece promover a translocação bacteriana no intestino de camundongos. Também foi observado que este procedimento aumenta a resistência a translocação bacteriana induzida por inoculação intraperitoneal de endotoxinas de *Escherichia coli*. Devendo, então, a sepse pós-esplenectomia ser causada por inoculação intranasal ou intravenosa (SCHWARTZ et al., 1982; LEEMANS et al., 1999).

A coagulação intravascular disseminada com púrpura fulminante (síndrome de Waterhouse-Friderichsen) pode complicar as infecções de etiologia pneumocócica ou por outras bactérias, sendo mais grave nos pacientes esplenectomizados (COLE, FLAUM, 1992; NORRIS, VERGIS, YU, 1996). Viroses, herpes, micoses e doenças parasitárias, que habitualmente são autolimitadas e de menor risco na população em geral, nos pacientes asplênicos podem assumir formas muito agressivas, com maior probabilidade de evolução para óbito (LEWIS, SWIRSKY, 1996). Isso ocorre porque a esplenectomia implica em deficiência da atividade das células monomacrofágicas, responsáveis pela aderência as bactérias, seguida de fagocitose e destruição das mesmas, mediada pela geração de

produtos microbicidas; além da diminuição dos níveis de IgM desde o primeiro mês pós-operatório (TIMENS, LEEMANS, 1991)

Em estudos de ALBERTI et al. (2007) com sobrevivência relacionada ao sexo após esplenectomia em modelo animal, foi observado que os animais esplenectomizados tiveram mortalidade súbita elevada, mais frequente no primeiro mês pós-operatório. Os ratos morreram sem evidenciar prostração, inapetência ou adinamia, que pudessem sugerir quadro infeccioso. A sepse também não pôde ser comprovada à necropsia. Na maioria dos casos, os óbitos foram constatados no dia seguinte ou várias horas após a morte dos animais. Nessa situação, a necrobiose que se instalou dificultou a análise microscópica ou a validade da análise bacteriológica. ALBERTI et al. (2007) observou, também, que as fêmeas murinas apresentaram maior resistência à asplenia e consequentemente menor mortalidade que os machos.

Tendo em vista que o baço estimula e produz IgM, é esperada sua redução após esplenectomia. Contudo, estudo realizado por PETROIANU, ANTUNES (2003) demonstraram que os níveis de IgM mantiveram-se elevados mesmo após as esplenectomias subtotal e total em humanos com esquistossomose. Esses achados também foram descritos previamente (CURIEL et al., 1972; CAMUS et al., 1977; GUERRA et al., 1991) e podem ser considerados como subsídio para explicar a reduzida taxa de infecção encontrada nos pacientes esquistossomóticos esplenectomizados (PETROIANU, 2002; PETROIANU, PETROIANU, 2003). Alguns estudos demonstram que mesmo na esquistossomose associada à desnutrição, não são observados nos pacientes, quadros sépticos graves no período pós-operatório, assim como não há registro de tais complicações, de forma significativa, durante a história de sua afecção (RESENDE et al., 2002). Na doença, essa opsonina media a ação dos eosinófilos sobre os antígenos do esquistossoma e seus ovos (BUTTERWORTH et al., 1988). Portanto, pode-se considerar que haja correlação direta entre os níveis dessa imunoglobulina e a gravidade da esquistossomose (DUNNE et al., 1987). Por outro lado, no trauma, é bem conhecida a queda dos níveis de IgM após esplenectomia total (SCHUMACHER, 1970; GUERRA et al., 1991). A diferença entre os resultados das várias causas de esplenectomia sugere respostas do sistema mononuclear fagocitário particulares a cada situação.

Mesmo PETROIANU, ANTUNES (2003) concluírem que as esplenectomias subtotal e total em pacientes esquistossomóticos são as responsáveis pelo aumento da IgM e da IgA, e que mesmo na ausência de baço, as defesas imunológicas dos pacientes

parecem preservadas; em alguns estudos foram encontradas infecções bacterianas em pacientes esquistossomóticos, causando sepse e bacteremias pós-operatórias ou não (NISHIOKA et al., 1992; FERRAZ et al., 1993; FERRAZ et al., 2005). Desta forma, há necessidade de esclarecimento com estudos experimentais que possam evitar fatores de confundimento.

2.3 DIFERENÇAS IMUNOLÓGICAS ENTRE OS SEXOS NAS RESPOSTAS AS INFECÇÕES

Mulheres têm o timo mais desenvolvido, maiores níveis de imunoglobulinas e maior proporção de linfócitos T CD4/CD8+ na circulação periférica (AMADORI et al., 1995). Por outro lado, neste sexo, as células NK têm menor atividade citotóxica e menor citotoxicidade celular dependente de anticorpos (PELFREY, 2001). Os esteróides gonadais podem regular o número de monócitos, sua produção de citocinas e a diferenciação destes monócitos em macrófagos, exercendo suas funções sobre o sistema imunológico por modificar a secreção das citocinas imunomoduladoras e regular a expressão de receptores na superfície celular. Estes mecanismos influenciam tanto o número como a função da célula. O estrogênio não altera a atividade celular imunossupressora, mas concernente à imunidade humoral, em concentrações fisiológicas, estimula a produção de imunoglobulinas, possivelmente pela inibição dos linfócitos T supressores (GROSSMAN, ROSSELE, MENDENHALL, 1994). Há fortes evidências de que o estrogênio causa mudanças tanto no número total de linfócitos como nos seus diferentes subtipos. "In vitro", os estrogênios promovem a proliferação dos linfócitos T, diferenciação, proliferação e sobrevivência dos linfócitos B e maior produção de imunoglobulinas IgG e IgM (KANDA, TAMAKI, 1999). Nos monócitos humanos, o estradiol diminui os níveis de IL-6 e não altera os níveis de TNF- α (JAIN et al., 2004).

Vários estudos demonstram que, durante a gravidez, ocorre supressão do sistema imunocelular para prevenir a rejeição materna fetal, pelo aumento nos níveis de estrogênio e/ou progesterona (GROSSMAN, 1984). Apoio a este papel supressivo da progesterona é dado pelo conhecimento de que muitas doenças auto-imunes, como a artrite reumatóide e a esclerose múltipla, podem melhorar com a gravidez e piorar após o parto. Nos monócitos humanos, a progesterona eleva a síntese das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6 (JAIN et al., 2004).

Os androgênios são principalmente supressores das imunidades celular e humoral, tendo a capacidade de modificar tanto as ações dos linfócitos T como dos linfócitos B, além de regular as funções imunocompetentes do linfócito T (GROSSMAN, 1984). A testosterona não age nas células imunossupressoras. Receptores para a dehidroepiandrosterona (DHEA) foram identificados nos linfócitos T humanos, mas é possível que androgênios fracos atuem apenas após conversão em androgênios ativos ou em estrogênios (estrone, estradiol). Enzimas capazes desta conversão são expressas nos PMN e macrófagos. A DHEA parece capaz de aumentar a secreção de IL-2, ativar as células NK e inibir a liberação de IL-6 “in vitro” (LUCHETTI et al., 2004). No entanto, nenhum benefício sobre a resposta imune foi mostrado com seu uso clínico (ARLT, HEWISON, 2004). Androgênios, como os estrogênios, podem ainda suprimir a linfopoiese B em consequência da presença de receptor específico antagonista androgênico na medula óssea. Via conversão metabólica a estrogênios, os androgênios podem também estimular a resposta imuno-humoral (GROSSMAN, 1984). Em monócitos humanos, a testosterona estimula a síntese da citocina pró-inflamatória IL-6 e não modifica a produção de TNF- α (JAIN et al., 2004).

Alterações nas funções reprodutoras de mamíferos esquistossomóticos, provocadas por diminuições nos níveis sorológicos de gonadotropinas (FSH e LH) e testosterona têm despertado a atenção da comunidade científica. Experimentos com ratos e hamsters (LANSOUD-SOUKATE et al., 1991), e com coelhos (KASILIMA et al., 2004), mostraram que a infecção por *S. mansoni* pode prejudicar a função reprodutora por diminuir as concentrações plasmáticas de LH e testosterona. Em humanos, demonstrou-se que a esquistossomose pode causar anomalias anatômicas dos órgãos genitais e efeitos adversos no sistema endócrino, podendo haver diminuição da contagem de espermatozoides. Estes achados podem estar relacionados a aumento dos níveis sorológicos de estradiol e diminuição na testosterona (SAAD et al., 1999).

Entre crianças e adultos, a intensidade e prevalência das infecções causadas por *Schistosoma* em áreas endêmicas são maiores em homens do que em mulheres (DEGU et al., 2002; FERREIRA, SILVA, 2007). Essas diferenças poderiam ser atribuídas a vários fatores, incluindo o comportamento, habitat, maior contato com água contaminada, maior exposição aos moluscos, e diferença na pele que poderia facilitar a penetração da cercária (SHIFF et al., 1972). Entretanto, a infecção por *S. mansoni* diminui as concentrações plasmáticas de LH e testosterona, fazendo com que os homens apresentem elevada

resposta pró-inflamatória, humoral, perfil Th1 e Th2 (REMOUE et al., 2001; NAUS et al., 2003). Consequentemente, estes indivíduos apresentam maior resposta inflamatória contra *S. mansoni*, desenvolvendo a forma mais grave da doença, com sintomas como hepatoesplenomegalia (MWHAT et al., 1998). Em contraste, uma resposta regulatória, incluindo síntese de IL-10 e TGF- β , que limitam e regulam as respostas inflamatórias, encontra-se maior em fêmeas. A produção de IgA, que protege contra re-infecção por *Schistosoma*, também é maior em fêmeas do que em machos (REMOUE et al., 2001).

Apesar dos machos serem mais susceptíveis do que as fêmeas a muitos parasitas, existem exceções onde eles são mais resistentes. É o caso dos camundongos *Mus musculus* machos que são menos susceptíveis do que as fêmeas a infecção por *S. mansoni*. Estes efeitos são mais bem observados quando a testosterona é administrada durante o desenvolvimento das formas imaturas do parasita (NAKASAWA et al., 1997).

2.4 MICROBIOTA INDÍGENA DO TRATO DIGESTÓRIO

O trato digestório dos mamíferos abriga microbiota extremamente densa e diversa, podendo ser colonizado por cerca de 10^{14} tipos de células procariotas e eucariotas (KAPER, SPERANDIO, 2005). O conceito de intestino como o mais complexo ecossistema bacteriano conhecido surge do fato de que mais de 75% do peso seco de produtos fecais são compostos por células microbianas e que cada grama contém, aproximadamente, 1×10^{11} micro-organismos de aproximadamente, 50 a 200 gêneros (DUNNE, 2001).

Diversos tipos de micro-organismos estão presentes no intestino. Bactérias são predominantes, mas uma variedade de protozoários é comumente encontrada. Fungos anaeróbios são amplamente distribuídos no trato digestório de herbívoros como também o são leveduras e bacteriófagos. Tem se estimado que, o cólon de alguns mamíferos, contém aproximadamente de 700 a 1000 espécies diferentes de bactérias e são caracterizadas por sua densidade, diversidade e complexidade de interações (GUARNER, MALAGELADA, 2003; KAPER, SPERANDIO, 2005), estudo indica que somente 30 a 40 destas espécies chegam a atingir níveis dominantes, onde passam a ter funções para o hospedeiro que as aloja (VAUGHAN et al., 2000). Toda esta comunidade microbiana pode se localizar no lúmen, nas criptas de Lieberkuhn ou na superfície do epitélio intestinal. Seu estabelecimento e manutenção constitui processo complexo que pode ser influenciado por

vários fatores, como: dieta, idade, utilização de antibióticos, utilização de probióticos e prebióticos, ambiente, microbiota materna, via do parto, interações microbianas e micro-organismo/hospedeiro e a presença de certos genes e receptores, além de sua sucessão ecológica, demanda nutricional e tolerância oral (VAN DER WAALJ, 1989; BOURLIOUX et al., 2003). Estes dados mostram que a microbiota é um ecossistema imensamente complexo, que pode ser comparado a uma entidade funcional ou a um “órgão” dentro do hospedeiro (NICOLI, 1995).

Os processos envolvidos na aquisição e subsequente estabelecimento de comunidades microbianas intestinais envolvem a sucessão de populações dentro de regiões específicas do intestino, além de interações micro-organismo/hospedeiro (DUNNE, 2001). Os animais nascem sem qualquer tipo de micro-organismo associado, mas esta situação é apenas transitória. Por ocasião do nascimento, colonização de superfícies internas e externas do corpo, incluindo a pele e as mucosas do trato respiratório superior, sistema urogenital inferior e trato digestório ocorrem rapidamente após o parto com micro-organismos oriundos da mãe, do alimento e do ambiente. Durante o parto, o recém-nascido entra em contato com bactérias da vagina e genitália externa da mãe, das fezes que são expelidas involuntariamente pela mãe e, finalmente, com outras fontes ambientais às quais é exposto (SAARELA et al., 2002; NICOLI, VIEIRA, 2004).

Muitos micro-organismos não são capazes de colonizar “habitats” do trato de neonatos e desaparecem logo após o nascimento. Outros tipos são os pioneiros que criam condições para a colonização de outros que eventualmente formarão a comunidade clímax no animal adulto. Quando os pioneiros colonizam os “habitats” estéreis, uma sequência de eventos começa. Este processo pode ser interpretado como uma sucessão ecológica nos vários “habitats” por micro-organismos indígenas. A sequência de colonização é relativamente constante e característica em cada espécie animal com somente algumas variações dependendo do tipo de parto (cesariana ou natural), o tipo de alimento recebido (leite materno ou fórmula) e o grau de exposição ao ambiente (GUARNER, MALAGELADA, 2003; NICOLI, VIEIRA, 2004). A partir do momento que o número bacteriano aumenta, esses dois fatores – disponibilidade de alimento e espaço – ficam escassos, os “habitats” ficam ocupados por micro-organismos mais especializados e a complexidade da biota aumenta (FALK et al., 1998).

O período inicial da colonização bacteriana no cólon acontece por aproximadamente duas semanas. As bactérias pioneiras predominantes variam de acordo

com as espécies de hospedeiro, sugerindo que existem provavelmente alguns mecanismos de controle desenvolvidos por cada espécie para sua própria colonização (KLEESSEN et al., 2000). Em suínos podemos constatar a presença de *Escherichia coli* e *Lactobacillus*. A microbiota relativamente simples de recém-nascidos que se alimentam do leite materno permanece até que a suplementação da dieta se inicie. Existe, então, um período de transição contínuo no qual a microbiota intestinal evolui para parecer-se com a do adulto (DUNNE, 2001; SAARELA et al., 2002; NICOLI, VIEIRA, 2004). Em suas descrições de fatores que influenciam a microbiologia do ambiente alimentar, MACKIE et al., em 1999, afirmaram que as bactérias indígenas não são distribuídas aleatoriamente por todo o trato digestório, mas, ao contrário, são encontradas em níveis populacionais e em distribuições de espécies que são característicos de regiões específicas do trato digestório.

A distribuição de micro-organismos no intestino delgado reflete os números de bactérias que entram a partir do estômago e o mecanismo de clareamento do intestino delgado é principalmente a motilidade apresentada pelo mesmo. O intestino delgado mediano contém altas contagens de micro-organismos anaeróbios facultativos e baixas contagens de anaeróbios estritos (KLEESSEN et al., 2000; BARBOSA et al., 2010). O peristaltismo intestinal é certamente fator essencial responsável pela redução da microbiota no início do intestino delgado. Se o trânsito do bolo alimentar é normal, o tempo de residência das bactérias no intestino é menor que o tempo necessário para sua multiplicação e, portanto, elas não têm tempo suficiente para se proliferarem. Logo que a taxa de trânsito decai, como na parte distal do intestino delgado, e nas regiões do ceco e do cólon, os micro-organismos se dividem antes de serem eliminados e seu número total aumenta (DUCLUZEAU, 1989).

O intestino delgado distal (íleo) é considerado uma “zona de transição” entre a microbiota de níveis relativamente baixos dos dois terços proximais do intestino delgado e uma microbiota abundante do intestino grosso. Comparada à parte proximal do intestino delgado, a parte distal, com diminuição do peristaltismo e o baixo potencial de óxido-redução, mantém a microbiota mais diversificada e com altos níveis populacionais (10^8 UFC/g de conteúdo intestinal) (BERG, 1996). No íleo distal, espécies gram-negativas anaeróbias facultativas, como *Escherichia coli*, aparecem em níveis próximos as espécies gram-positivas, como *Lactobacillus* e *Enterococcus*. Algumas espécies anaeróbias estritas, como *Bacteroides*, *Veillonella* e *Clostridium*, estão em equilíbrio com as anaeróbias

facultativas e sua população chega a 10^9 UFC/g de conteúdo (TANNOCK, 1995; DUNNE, 2001).

O intestino grosso é o principal sítio de colonização microbiana em animais, provavelmente por causa da baixa motilidade intestinal encontrada e o baixo potencial de óxido-redução. A imunidade intestinal pode ter importante papel na modulação das interações bactéria-mucosa (KLEESSEN et al., 2000). Os níveis populacionais de bactérias atingem cerca de 10^{10} - 10^{11} UFC/g de conteúdo intestinal, com estimativa de 700-1000 espécies presentes, pertencentes a 50 a até 200 gêneros. No intestino grosso 99,9% da microbiota indígena são bactérias anaeróbias estritas e a maioria é extremamente sensível ao contato com oxigênio atmosférico (NICOLI, VIEIRA, 2004; KAPER, SPERANDIO, 2005).

Diferenças drásticas podem ser observadas entre a microbiota do lúmen e da mucosa. Enquanto que o ambiente do lúmen pode ser anaeróbico, na mucosa algum nível de oxigênio pode vir dos tecidos, criando ambiente microaerófilo. O lúmen só pode ser colonizado em áreas como o íleo e o intestino grosso, onde a velocidade do fluxo digestório é inferior à velocidade de duplicação dos micro-organismos. A variação na composição da microbiota em diferentes sítios do trato digestório tem implicações nas informações obtidas de amostras coletadas de diferentes sítios (ISOLAURI et al., 2004; NICOLI, VIEIRA, 2004).

A distinção entre microbiota dominante e subdominante de um lado e residual do outro é muito importante do ponto de vista funcional. Tem-se estabelecido experimentalmente que uma população microbiana no trato digestório só tem efeito no hospedeiro quando ela está presente em níveis maiores que 10^7 - 10^8 UFC/g de conteúdo. Abaixo destes valores, a quantidade de metabólitos produzidos é insuficiente para agir no hospedeiro. Assim, todo micro-organismo que tem papel na fisiologia do hospedeiro pertence à microbiota dominante e subdominante (NICOLI, VIEIRA, 2004). Apesar de alguma variação individual em nível de espécies, a microbiota digestiva dominante e subdominante permanecem relativamente estáveis em nível de gênero em espécie animal determinada. Por isso, existe um perfil específico da microbiota intestinal dominante para cada espécie animal. Por outro lado, a microbiota residual difere consideravelmente de um indivíduo para outro em uma mesma espécie animal (NICOLI, 1995).

Algumas das funções da microbiota intestinal têm considerável importância para o hospedeiro. Elas incluem a resistência à colonização, a modulação do sistema imune e participação na nutrição do hospedeiro (MCFARLAND, 2000). De forma geral, os micro-organismos da biota residente são inócuos e benéficos na sua localização normal no hospedeiro e na ausência de anormalidades concomitantes. Por outro lado, os próprios membros da microbiota podem provocar doença em certas circunstâncias. Estes micro-organismos estão adaptados ao modo de vida não-invasivo, definido pelas limitações do meio ambiente. Se forem retirados das restrições desse ambiente e introduzidos na corrente sanguínea ou em tecidos, esses agentes podem tornar-se patogênicos (GORBACH, SIMON, 1987; BARBOSA et al., 2010).

2.5 TRANSLOCAÇÃO MICROBIANA VIA TRATO DIGESTÓRIO

A alta incidência de infecções sistêmicas em diversas situações de injúria orgânica, aliada à presença de microbiota específica para cada tipo de infecção, levou à formação do conceito de translocação microbiana. O intestino foi considerado o local mais importante na origem destas infecções, pelo fato de ser um grande reservatório de micro-organismos. Estes permanecem no lúmen intestinal, pois são contidos por eficiente barreira mucosa (SCHLEGEL et al., 2000; WIEST, RATH, 2003).

Inicialmente, a translocação foi definida como sendo a passagem de bactérias viáveis através do revestimento mucoso e da lâmina própria para os linfonodos e, possivelmente, para outros tecidos estéreis (BERG, 1995). Entretanto, este conceito foi reavaliado e ampliado, definindo-se como a passagem de micróbios viáveis e não viáveis, assim como de seus produtos, a exemplo das endotoxinas, através de barreira mucosa intestinal. A fisiologia da translocação depende do papel de barreira exercido pela mucosa intestinal, sendo auxiliada pelos componentes do sistema imune celular (enterócitos, macrófagos e linfócitos T) e humoral (IgG, IgM e IgA secretória) (WIEST, RATH, 2003). Vários estudos em animais têm demonstrado que translocação é fenômeno multifatorial, que pode ser resultado do rompimento do equilíbrio normal da microbiota indígena, o que contribui para excessivo crescimento de determinadas bactérias. O sistema imunológico do hospedeiro debilitado ou a ruptura física da barreira intestinal também podem, isoladamente ou em associação, facilitar a passagem de bactéria via intestino (GENCAY et al., 2008; ZANONI et al., 2009; NIKITENKO, STADNIKOV, KOPYLOV, 2011).

O eficiente funcionamento imunológico do trato digestório dos mamíferos é resultante de processo evolutivo ocorrido em milhões de anos até culminar em sua atual carga genética. Esse sistema aprimorou-se pelo contato com micróbios e com dietas diversificadas. Durante sua evolução, o sistema imune da mucosa intestinal aparentemente desenvolveu duas armas de defesas adaptativas: a) exclusão imunitária, realizada por anticorpos secretados, particularmente IgA, que inibe colonização de micro-organismos patogênicos e penetração de antígenos luminais; b) mecanismos auto-regulatórios que visam evitar hipersensibilidade local e periférica aos inúmeros micróbios e substâncias que bombardeiam constantemente a superfície da mucosa intestinal, mecanismo conhecido como tolerância oral (JANEWAY et al., 2002).

O trato intestinal possui grande atividade imunológica, contendo muitos tipos de leucócitos. Seu sistema imunitário antigênico local (GALT - Gut Associated Lymphatic Tissue) atua como maior órgão imunitário do organismo, ocupando 25% da massa celular da mucosa, compreende metade das células linfáticas do corpo, contêm numerosas células plasmáticas, macrófagos, neutrófilos, células de Paneth e células especializadas de membrana que têm papel chave no controle da translocação (JANEWAY et al., 2002; WIEST, RATH, 2003). As bactérias mais comumente encontradas em processos de translocação são bactérias presentes na microbiota intestinal normal, principalmente bacilos gram-negativos aeróbios e facultativos, bactérias que normalmente colonizam em grande número o intestino. Segundo WIEST, RATH (2003), bactérias aeróbias gram-negativas podem translocar com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. Bactérias anaeróbias, translocam apenas em situações em que o intestino se encontra estruturalmente danificado. Além disto, estas bactérias formariam um “tapete”, revestindo a superfície mucosa, impedindo assim a colonização por micróbios potencialmente invasores (JANEWAY et al., 2002). A capacidade de translocação é maior em linhagens específicas de bactérias, principalmente as que possuem maior capacidade de aderência e fixação ao epitélio produtor de muco. Esta capacidade geralmente está associada aos bacilos entéricos portadores de fímbrias, por exemplo, alguns tipos de *Escherichia coli* (WIEST, RATH, 2003) (FIGURA 8).

A barreira celular epitelial intestinal, composta pelas células epiteliais com suas junções intercelulares previne ou limita a entrada de antígenos alimentares e micróbios. Existem outros fatores locais que atuam em conjunto com a barreira na defesa contra invasores: IgA, muco, ácido gástrico, enzimas pancreáticas, bile, peptídeos antibacterianos

e antifúngicos, motilidade intestinal, criptidinas e defensinas, sintetizadas pelas células de Paneth (JANEWAY et al., 2002; DWINELL et al., 2003; WIEST, RATH, 2003). A secreção e transporte ao lúmen intestinal de IgA é mediado por um tipo especial de célula T de memória com capacidade proliferativa reduzida, que ativa células B auxiliares. Estes linfócitos T, diferentemente dos linfócitos T sanguíneos periféricos, são desenvolvidos com relativa independência do timo e possuem função diversa. Estudos sugerem que a mucosa normal regula a atividade destas células T, e que sua ativação produz resposta inflamatória (JANEWAY et al., 2002; DWINELL et al., 2003).

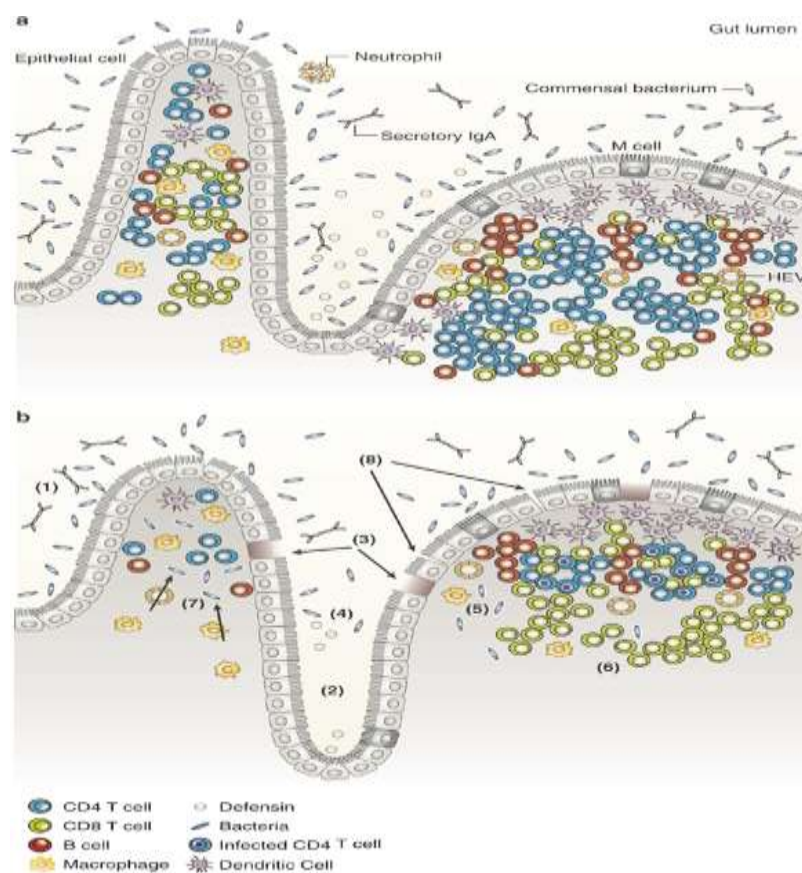


FIGURA 8 – Trato digestório. **(a)** Saudável com vilosidades, criptas, macrófagos, células dendríticas, manutenção da barreira epitelial, células T, células B, e peptídeos defensina luminal. **(b)** Na imunodepressão (1) vilosidades danificadas, (2) hiperplasia das criptas, (3) danos à barreira epitelial com apoptose dos enterócitos, (4) diminuição da defensina luminal, (5) depleção de células CD4, (6) Células CD4 infectadas, (7) translocação microbiana e (8) aumento da permeabilidade.

FONTE: BRENCHLEY, DOUEK, 2008.

Estudos mostram que bactéria intestinal pode causar doença sistêmica em indivíduos imunossuprimidos, sem outras condições associadas. Isto leva a crer que disfunção imune promove primariamente translocação (JANEWAY et al., 2002; WIEST, RATH, 2003; MACFIE, 2004). Entretanto, a ocorrência de translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos em animais saudáveis foi observada por pesquisadores e tem sido considerada como parte de estimulação normal antigênica do tecido linfóide associado ao intestino, mesmo na ausência de injúria (SCHLEGEL et al., 2000; STEINBERG, 2003). Para BERG (1995), a translocação ocorreria em 3 estágios; no primeiro estágio, a bactéria transporia a mucosa intestinal, alcançando os linfonodos mesentéricos; no segundo estágio, a bactéria migraria dos linfonodos mesentéricos para outros órgãos como fígado, baço, pulmões e rins; e no terceiro e último estágio, a bactéria se disseminaria pela cavidade peritoneal e sangue, provocando quadro septicêmico.

Existem várias rotas possíveis por meio das quais micro-organismos poderiam translocar do intestino para outros locais. Estudos de translocação, usando partículas inertes, sugerem que estas partículas poderiam translocar através do epitélio intestinal, possivelmente como passageiros passivos dentro de fagócitos móveis (ALEXANDER et al., 1990; WIEST, RATH, 2003). Tem sido sugerido que o mecanismo pelo qual as bactérias atravessariam a barreira mucosa seria principalmente através do próprio enterócito. ALEXANDER et al. (1990) demonstraram que a taxa de translocação bacteriana é maior através dos enterócitos do que entre eles e que isto ocorreria por processo diferente da fagocitose ou exocitose clássicos, sendo observado em enterócitos morfológicamente intactos. Acreditava-se que a capacidade de internalização através destes enterócitos estaria ligada ao grau de diferenciação destes e a sua produção de integrinas. Posteriormente, foi observado que nem a maturidade do enterócitos e tampouco, sua produção de integrinas, aumentariam a capacidade de penetração de micro-organismos. Entretanto, mostrou-se que os micro-organismos internalizam-se mais facilmente quando são expostos às membranas laterais dos enterócitos (HESS et al., 2001).

Existem evidências que sugerem papel chave do macrófago intestinal no processo de translocação. Bactérias *E. coli* marcadas mostraram translocar através de trânsito direto pelos enterócitos, alcançando a lâmina própria onde são fagocitadas por macrófagos que transportam a bactéria até os linfonodos mesentéricos, assim as bactérias sobreviventes são liberadas (WIEST, RATH, 2003). Transporte direto de *Salmonella* do trato digestório

até a corrente sanguínea também se daria através de macrófagos, presentes na lâmina própria. A partir daí, viajariam até nódulos linfáticos, fígado, baço e medula óssea, alcançando assim a corrente sanguínea. O macrófago, muitas vezes, se mostra incapaz de matar o micro-organismo, servindo então como seu meio de transporte (RUNDLES, LIN, 1998).

Outra porta de entrada microbiana sugerida seria através das células de membrana, encontradas em porcentagens variáveis no intestino de diferentes espécies e facilmente identificadas pela microscopia eletrônica, devido à sua borda em escova incomum. Pesquisas mostram que elas transportam antígenos através da mucosa até o tecido linfóide, onde ocorrem as respostas imunitárias (BRANDTZAEG, 1998). Estudos com espécies de *Yersinia* concluíram que células de membrana de murinos são alvos preferenciais para invasão, podendo também ocorrer colonização e lesão das placas de Peyer. O mesmo tem sido relatado com a *Shigella flexneri*, que também invade células de membrana de coelho, com subsequente dano às placas de Peyer (JANEWAY et al., 2002). Existem outras evidências em animais que bactérias patogênicas invadem células de membrana e danificam placas de Peyer, podendo ser esta uma das prováveis rotas que levariam à internalização de componentes da microbiota. No entanto, na opinião de JEPSON, CLARK (1998), as células de membrana constituem pequena proporção da superfície da mucosa e, portanto, os autores acreditam na existência de outras rotas de igual importância (FIGURA 9).

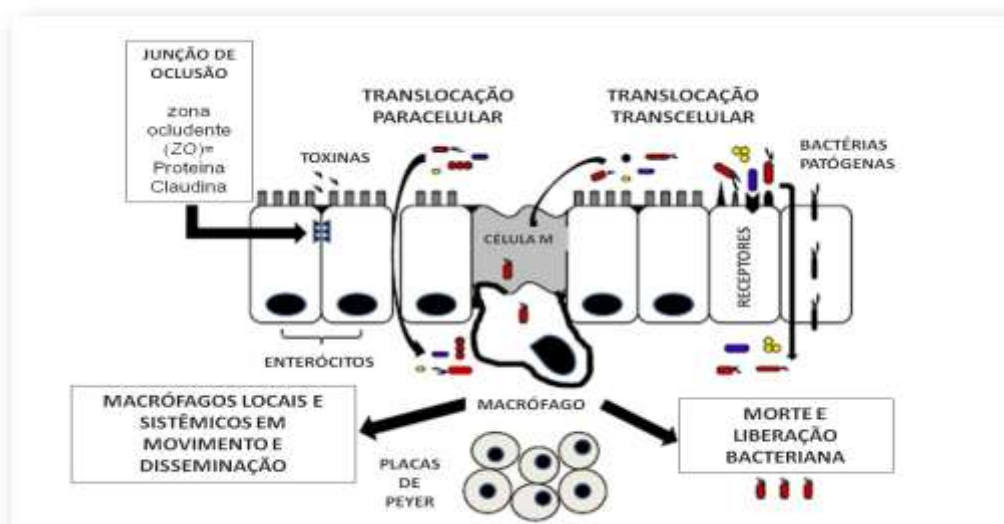


FIGURA 9 – Principais rotas de translocação bacteriana.

FONTE: MICHAEL, SHERMAN, 2010

Em humanos, translocação além de nódulos linfáticos, raramente tem sido estudada. O principal impacto fisiológico da migração das bactérias além dos nódulos linfáticos até o ducto torácico seria a passagem através do sistema reticuloendotelial do fígado, que atuaria como filtro de toxinas e bactérias. Alguns autores têm relatado translocação de toxina através do ducto torácico em pacientes com falência sistêmica de órgãos (DEITH, BERG, 1987; DEITH, 1992). Em modelos experimentais com grande injúria, tem sido observada predominância de translocação via veia porta, demonstrando-se bactérias na circulação porta após sua detecção em grande quantidade nos linfonodos mesentéricos. O cólon possui características de permeabilidade diferentes do intestino delgado, apresenta maior resistência elétrica e menor permeabilidade ao movimento passivo de íons. Estas características explicariam a maior susceptibilidade do intestino delgado à translocação bacteriana (WIEST, RATH, 2003) (FIGURA 10).

No trato digestório, as leveduras são encontradas como parte da microbiota normal, entretanto, sabe-se que alguns fatores, como imunossupressão do sistema imunológico e uso prolongado de antibióticos, favorecem o aumento das leveduras presentes no intestino. Assim, a colonização fúngica abundante associada a lesões da mucosa intestinal pode contribuir para translocação de leveduras provenientes do intestino. Outros fatores que facilitam a translocação destes micro-organismos são terapia com antibióticos, obstrução intestinal, medicações citotóxicas, hiperpirexia e alimentação parenteral (ALEXANDER et al., 1990). O principal mecanismo de defesa contra fungos é desenvolvido pelos fagócitos, que os destroem por meio da produção de óxido nítrico e de outros componentes secretados por essas células. Adicionalmente, há participação de IFN- γ , aumentando a função de neutrófilos e macrófagos, não havendo evidências de atividade citotóxica por células T CD8+. Portanto, pacientes que apresentam neutropenia (menos de 500 neutrófilos/mm³) ou que tenham deficiência da imunidade celular cursam com frequência com micoses recorrentes e ocasionalmente desenvolvem formas graves e profundas (ROMANI, 2004).

Apesar da infecção por *Candida albicans* causar habitualmente infecções leves e sem maiores consequências, pacientes imunossuprimidos não apresentam apenas alta prevalência da infecção por *C. albicans*, mas também envolvimento de esôfago, estômago e intestino, sendo comuns infecções recorrentes. É consenso que a maior parte das candidemias é precedida pelo evento de colonização do próprio paciente pela mesma espécie de levedura responsável pela infecção. Em crianças que apresentam alteração na

resposta imune celular e distúrbios endócrinos múltiplos, o quadro raro de candidíase mucocutânea crônica é descrito. Nessas crianças observam-se diminuição da resposta Th1 e lesões cutâneas, mucosas e ungueais graves (LILIC, 2002).

Para algumas espécies fúngicas que acometem o aparelho respiratório, geralmente a infecção é controlada, e o indivíduo fica completamente assintomático. Quando não se desenvolve resposta Th1, há disseminação do fungo com envolvimento de órgãos do sistema reticuloendotelial e do pulmão; nesse contexto o papel da IL-4 parece importante, já que em modelo experimental a ausência desta citocina protege contra doença pulmonar grave (PINA et al., 2004). Para alguns autores, o aumento da microbiota fúngica digestória, em virtude de alterações imunológicas ou outros processos, pode favorecer a translocação destes micro-organismos pelo intestino (NUCCI, ANAISSIE, 2001). SUZUKI et al. (2007) relataram caso de paciente com síndrome de choque por dengue e falha no fígado, desenvolvendo infecção disseminada por *Candida tropicalis*. Esta infecção pode ter sido devida a translocação do fungo através do intestino danificado pelo vírus do dengue.

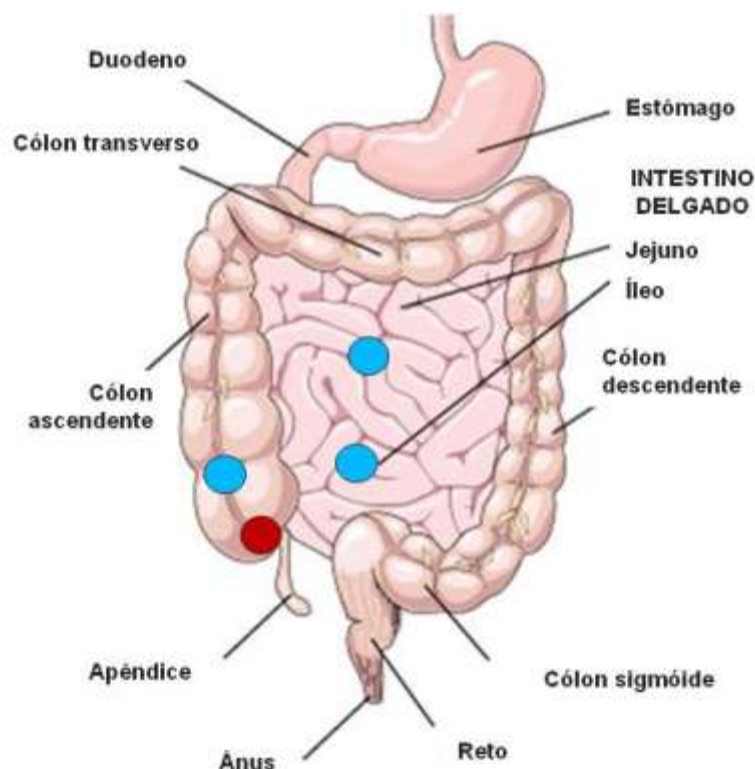


FIGURA 10 – Principais rotas de translocação bacteriana.

FONTE: Adaptada por Kedma de Magalhães Lima

GIANOTTI et al. (1993) avaliaram a translocação de *C. albicans* através da parede intestinal em grupo de vilosidades com diferentes níveis de perfusão sanguínea e concluíram que quanto maior o fluxo sanguíneo para as vilosidades, menor lesão ocorre na mucosa e menor é o índice encontrado de translocação de *C. albicans*. COLOMBO et al. (1996) relataram caso de paciente não-neutropênico HIV-positivo que apresentava candidemia cuja origem pareceu ter sido via translocação pelo trato digestório. Além destes, estudos com ratos demonstram que a hipoxia é fator para disseminação extra-intestinal de *C. albicans* (KIM et al., 2003) (FIGURA 11).

Diante do observado, é de extrema importância estudar a associação entre a translocação microbiana e a esquistossomose mansônica em camundongos na fase crônica da infecção, através da análise microbiológica de fragmentos dos linfonodos mesentéricos, órgãos, sangue porta e periférico; correlacionando com os micro-organismos da microbiota do trato digestório, procurando observar se a esplenectomia preserva as defesas imunológicas dos camundongos esquistossomóticos, protegendo-os da translocação bacteriana.

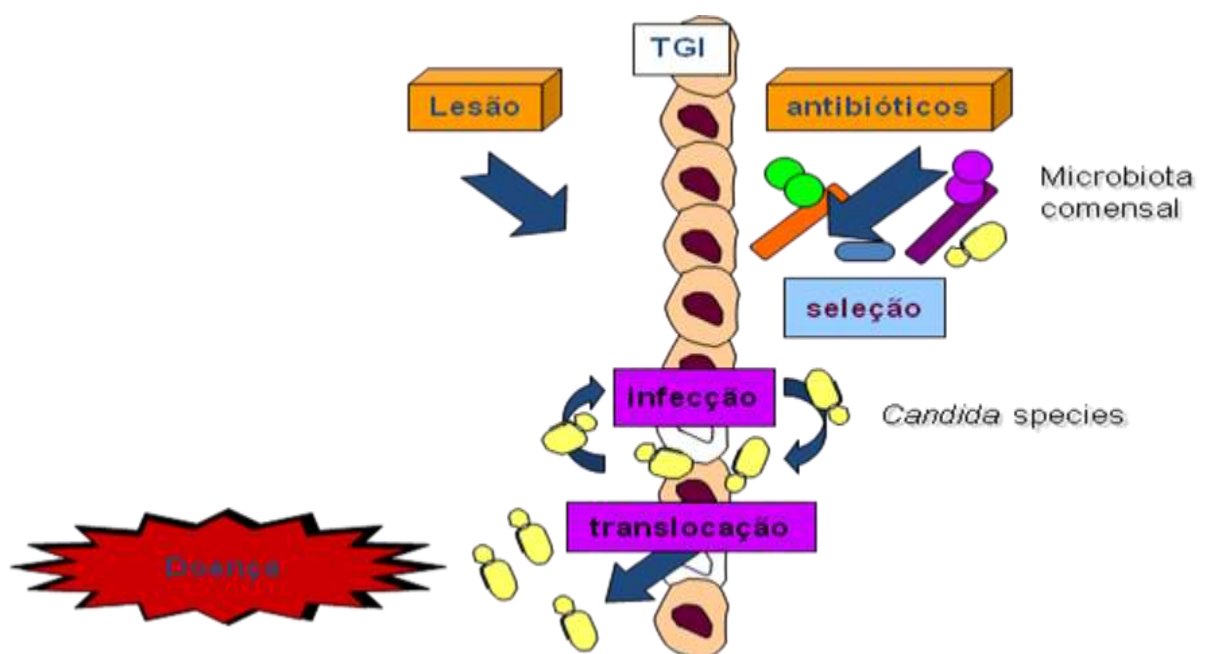
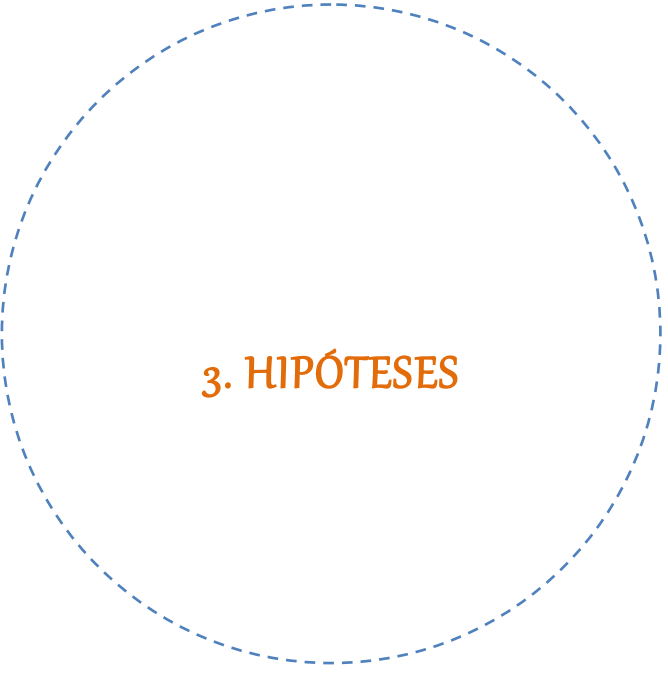


FIGURA 11 - Translocação de leveduras no trato digestório.

FONTE: Adaptada por Kedma de Magalhães Lima



3. HIPÓTESES

“Aprendi com as primaveras a me deixar cortar para poder voltar inteira.”

Cecília Meireles

3. HIPÓTESES

- Camundongos esquistossomóticos machos e fêmeas são mais susceptíveis a translocação microbiana que camundongos de ambos os sexos não parasitados;
- Camundongos esplenectomizados machos e fêmeas são mais susceptíveis a translocação microbiana que camundongos de ambos os sexos não esplenectomizados;
- A translocação microbiana em camundongos esquistossomóticos machos e fêmeas ocorre na ausência ou presença de esplenectomia. Entretanto, a sepse é mais frequente em camundongos esquistossomóticos esplenectomizados;
- Na esquistossomose mansônica, a microbiota do trato digestório tem padrões diferentes que os observados na microbiota de camundongos sem a doença crônica, não existindo diferenças em relação ao sexo;
- Na esplenectomia, a microbiota do trato digestório tem os mesmos padrões que os observados na microbiota de camundongos não esplenectomizados, indiferentemente do sexo;
- As bactérias que causam infecções no fígado de camundongos esquistossomóticos são as mesmas que compõem a microbiota normal;
- As bactérias que causam sepse em camundongos esplenectomizados não são as mesmas que compõem a microbiota normal;
- Ocorrem alterações na mucosa intestinal de camundongos esquistossomóticos;
- Não ocorrem alterações na mucosa intestinal de camundongos esplenectomizados.



4. OBJETIVOS

“Eu não sou nem especialmente inteligente, nem especialmente dotado. Sou apenas curioso, muito curioso... A coisa importante é não parar de questionar. Nunca perca a sagrada curiosidade. A curiosidade tem suas próprias razões para existir.”

Albert Einstein

4.1 Objetivo Geral

Investigar a associação da esquistossomose mansônica na fase crônica e as infecções microbianas como consequência da translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, baço, fígado, sangue porta e sangue periférico; observando se existe interferência do sexo e da esplenectomia.

4.2 Objetivos Específicos

- ❖ *Comparar camundongos esquistossomóticos na fase crônica e camundongos não parasitados, machos e fêmeas, quanto:*
 - Alteração da evolução ponderal;
 - Alterações na microbiota intestinal;
 - Alterações na mucosa intestinal;
 - Positividade de cultura de sangue porta e periférico;
 - Culturas de amostras dos linfonodos mesentéricos, fígado e baço.

- ❖ *Comparar camundongos esplenectomizados com camundongos não-esplenectomizados, machos e fêmeas, quanto:*
 - Alteração da evolução ponderal;
 - Alterações na microbiota intestinal;
 - Alterações na mucosa intestinal;
 - Positividade de cultura de sangue porta e periférico;
 - Culturas de amostras dos linfonodos mesentéricos e fígado.

- ❖ *Comparar camundongos esquistossomóticos esplenectomizados e esquistossomóticos não esplenectomizados, quanto:*
 - Alteração da evolução ponderal;
 - Alterações na microbiota intestinal;
 - Alterações na mucosa intestinal;
 - Positividade de cultura de sangue porta e periférico;
 - Culturas de amostras dos linfonodos mesentéricos e fígado.



5. ANIMAIS, MATERIAIS & MÉTODOS

“Quando os problemas se tornam absurdos, os desafios se tornam apaixonantes.”

Hélder Câmara

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado estudo experimental, com características de estudo de intervenção. No presente trabalho, o camundongo foi utilizado como modelo de hospedeiro vertebrado para esquistossomose mansônica na fase crônica. O grupo experimental foi especialmente criado. Neste caso, este foi composto por camundongos infectados anteriormente pela penetração ativa das cercárias para ser comparado ao grupo privado da infecção com o *S. mansoni*. Além disso, trata-se de estudo fatorial, onde duas ou mais intervenções experimentais foram avaliadas separadamente e em combinação e contra o controle. No presente estudo, o desfecho foi a translocação bacteriana, infecção e sepse, e os participantes, camundongos machos e fêmeas com esquistossomose e sadios, submetidos ou não a esplenectomia.

Os animais não foram randomizados, pois todos foram criados nas mesmas condições ambientais e alimentares. Desta forma, qualquer diferença existente entre os grupos foi atribuída à intervenção avaliada. Na investigação estritamente experimental, pode-se operar com definição bastante limitada das causas como nexos obrigatórios e unívocos entre fatores (Esquistossomose mansônica na fase crônica e suas alterações no hospedeiro) e efeitos (Translocação, infecção microbiana e sepse). A experimentação em condições laboratoriais, com alto grau de controle, pode estabelecer, com certa margem de segurança, o caráter etiológico da esquistossomose mansônica para a produção da translocação microbiana (ROUQUAYROL, ALMEIDA FILHO, 2003).

O modelo de estudo experimental é o único que pode fazer controle eficaz das confusões provocadas pelas variáveis de confundimento, que são desconhecidas, revelando, assim, relações de causalidade. Isso porque, além das condições controladas de observação, existe a facilidade de realização, uma vez que o mesmo foi desenvolvido em animais experimentais que apresentam respostas semelhantes aos humanos em relação à esquistossomose.

A linhagem de camundongos Swiss (*Mus musculus*), frequentemente utilizada em estudos experimentais, apresenta variabilidade genética (não isogênicos), o que facilita extrapolar os resultados; e neste animal as dificuldades de realização por questões éticas são menores.

5.2 ANIMAIS

Iniciou-se o estudo após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados como modelo experimental, camundongos machos e fêmeas da linhagem Swiss webster (*Mus musculus*) fornecidos pelo Biotério do Laboratório de Imunologia Keizo Asami (LIKA/UFPE) com 21 dias de nascidos (recém-desmamados), entretanto, os camundongos foram submetidos à infecção com *S. mansoni* com 35 dias de nascidos. Os animais foram mantidos na mesma sala e em condições ambientais similares, alojados em gaiolas especiais (machos separados das fêmeas), camas de maravalha (anteriormente autoclavada), com livre acesso para ração especial para camundongos (Labina®/Purina, São Paulo-SP) e água estéril *ad libitum* (FIGURA 12).

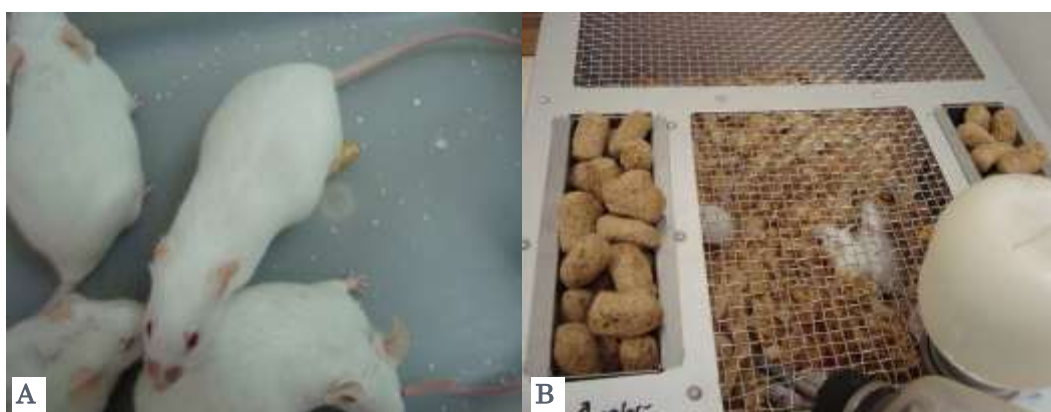
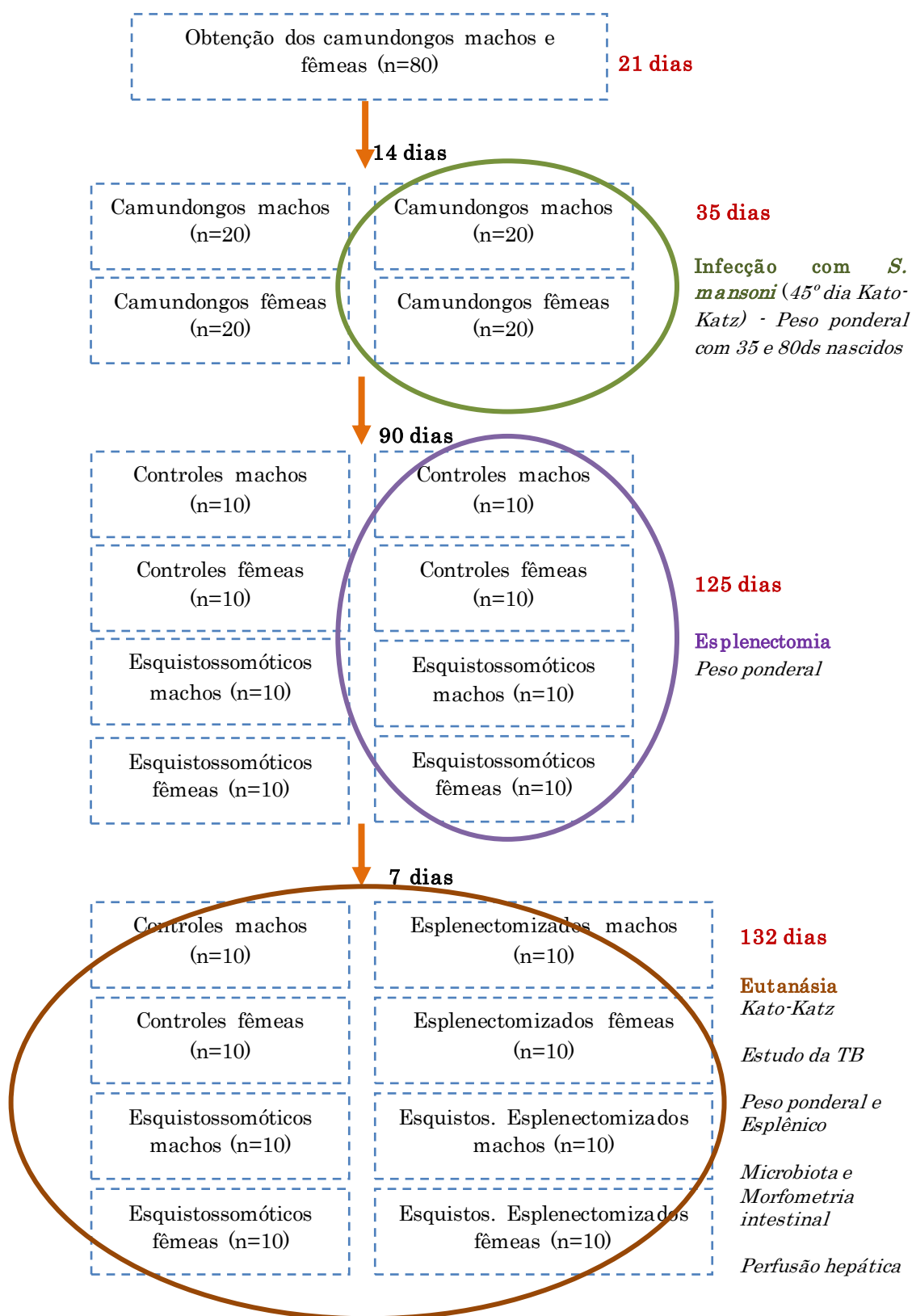


FIGURA 12 - A. Camundongo Swiss webster. **B.** Gaiola de camundongos, com cama de maravalha, ração Labina® e bebedouro, alojada no Biotério do LIKA/UFPE.

5.3 FORMAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

Foram utilizados 80 camundongos, 40 machos e 40 fêmeas, com 35 dias de nascidos. Destes, 40 camundongos (20 machos e 20 fêmeas) foram infectados com *S. mansoni* e 40 camundongos (20 machos e 20 fêmeas) constituíram o grupo dos não esquistossomóticos. Noventa dias após a exposição cercariana, 20 camundongos parasitados (10 machos e 10 fêmeas) e 20 camundongos não parasitados (10 machos e 10 fêmeas) foram submetidos à esplenectomia. Os animais foram mantidos vivos após cirurgia e sete dias depois, eutanasiados para estudo. Os animais não esplenectomizados também foram sacrificados (QUADRO 1):



Quadro 1 – Distribuição dos grupos de camundongos submetidos a estudo.

5.4 CATEGORIZAÇÕES DAS VARIÁVEIS

5.4.1 Variáveis independentes

<i>Nome</i>	<i>Definição conceitual</i>	<i>Definição operacional</i>	<i>Categorização</i>
Susceptibilidade dos camundongos à infecção pelo <i>S. mansoni</i>.	Capacidade dos camundongos serem infectados pelo <i>S. mansoni</i> .	Presença de ovos de <i>S. mansoni</i> eliminados nas fezes através de exame parasitológico e visualização do verme adulto durante perfusão do sistema porta-hepático.	Parasitados Não parasitados
Esplenectomia	Retirada do baço	Incisão subcostal esquerda com auxílio de tesoura cirúrgica para retirada do baço após 90 dias da exposição cercariana.	Esplenectomizados Não esplenectomizados
Sexo			Machos Fêmeas

5.4.2 Variáveis dependentes

<i>Nome</i>	<i>Definição conceitual</i>	<i>Definição operacional</i>	<i>Categorização</i>
Translocação microbiana	Passagem de micro-organismos via trato digestório para órgãos e/ou sistema circulatório.	Presença de micro-organismos em cultura de sangue e/ou homogeneizados de órgãos. Translocação microbiana local: Presença de micro-organismos em culturas de linfonodos mesentéricos, sangue porta, baço e fígado. Translocação microbiana sistêmica: Presença de micro-organismos em culturas de sangue periférico.	Translocação microbiana local Translocação microbiana sistêmica Sem translocação microbiana
Peso		Peso dos camundongos antes da infecção cercariana (35 dias), após Kato-Katz (80 dias), antes da esplenectomia (125 dias) até a eutanásia (132 dias).	Média±DP
Análise morfológica da mucosa intestinal	Biópsia intestino delgado colhido em lâminas contendo cortes corados pela Hematoxilina-Eosina	Medidas da altura e área das vilosidades, bem como área total (perímetro)	Média±DP
Avaliação da microbiota intestinal		Análise qualitativa e quantitativa de bactérias no conteúdo intestinal	UFC (log 10)/g de fezes

5.5 OBTENÇÃO DAS CERCÁRIAS E INFECÇÃO DOS CAMUNDONGOS

Para infecção dos camundongos, foram utilizadas cercárias, da cepa São Lourenço da Mata (SLM), obtidas de caramujos infectados da espécie *Biomphalaria glabrata*, mantidos no Moluscário do Departamento de Parasitologia (UFPE) pela equipe do Setor do Laboratório de Imunologia e Esquistossomose experimental (LIKA/UFPE). Os miracídeos foram colocados em contato com caramujos individualmente, segundo STANDEN (1952), permanecendo exposto à luz e ao calor por aproximadamente duas horas. Após infecção, os moluscos foram postos em aquários com água desclorada e livres de exposição luminosa. De acordo com OLIVIER, STIREWALT (1952), após 30 dias de infecção os moluscos da espécie *B. glabrata* em meio aquático e sob exposição à luz artificial, já têm a capacidade de eliminar cercárias através de seus tecidos moles (FIGURA 13).

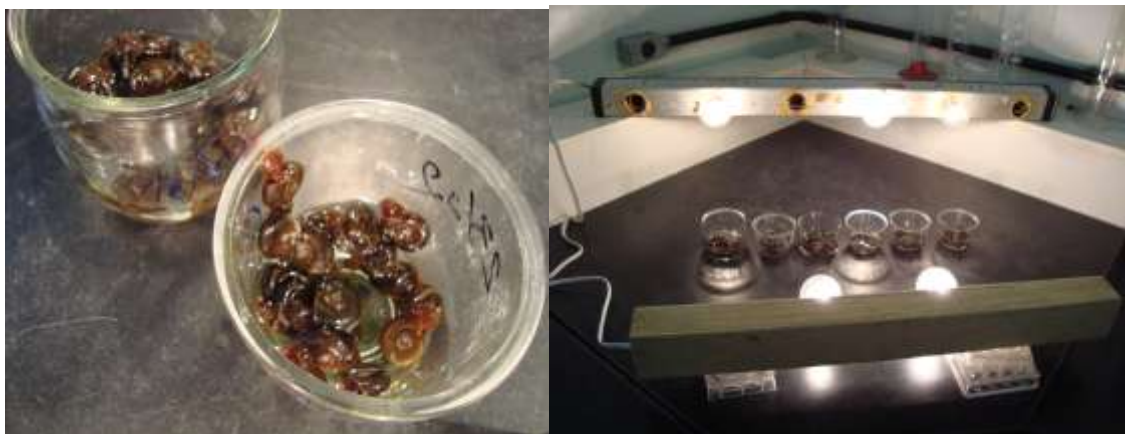


FIGURA 13 - Moluscos da espécie *B. glabrata* infectados, em meio aquático e sob exposição a luz artificial.

Após a obtenção da suspensão cercariana, cada camundongo, agora imobilizado com anestesia intramuscular - Solução cloridrato de xilazina 2% (10 mg/Kg) e cloridrato de cetamina 10% (115 mg/Kg) - foi infectado por via percutânea em uma fração desta suspensão, que continha, em média, 50 cercárias (FIGURA 14A e 14B). Os camundongos parasitados foram colocados em gaiolas separadas daqueles não parasitados (FIGURA 15).

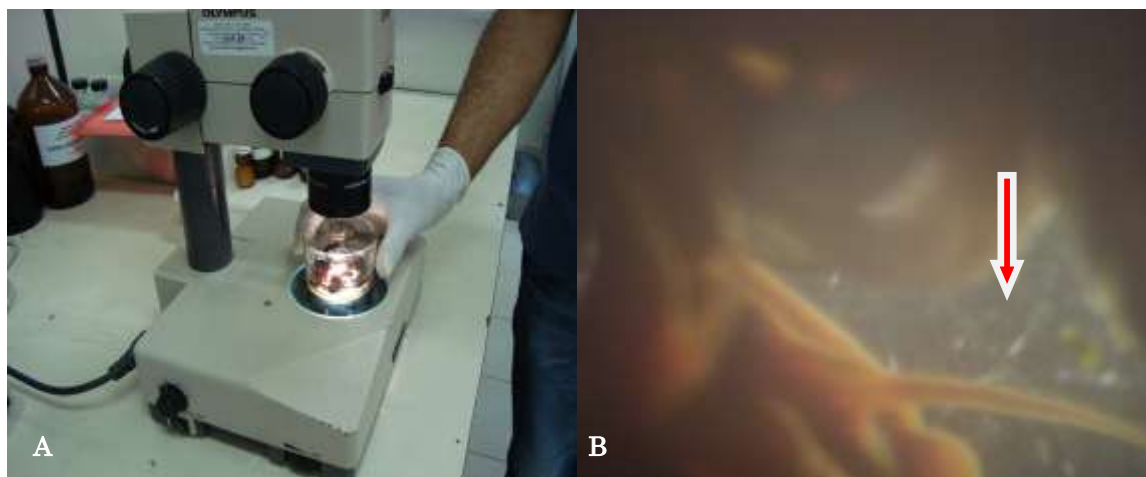


FIGURA 14 – A. Obtenção da suspensão cercariana. **B.** Cercária liberada pelo molusco e observada com auxílio da microscopia óptica (Ampliação x200).



FIGURA 15 - Camundongos anestesiados e expostos a suspensão de cercárias, por via percutânea, e luz artificial.

5.6 OVOS ELIMINADOS JUNTO AS FEZES

Amostras individuais de fezes dos animais foram utilizadas para realização do exame parasitológico segundo método de Kato-Katz (FIGURAS 16A, 16B, 16C e 16D). Uma primeira amostra foi coletada ao 45º dia pós-exposição às cercárias para confirmação da infecção e quantificação de ovos por grama de fezes antes da esplenectomia. Uma segunda amostra foi coletada ao 97º dia após infecção (antes da eutanásia) para avaliar o padrão de ovoposição depois da esplenectomia (FIGURA 16E).

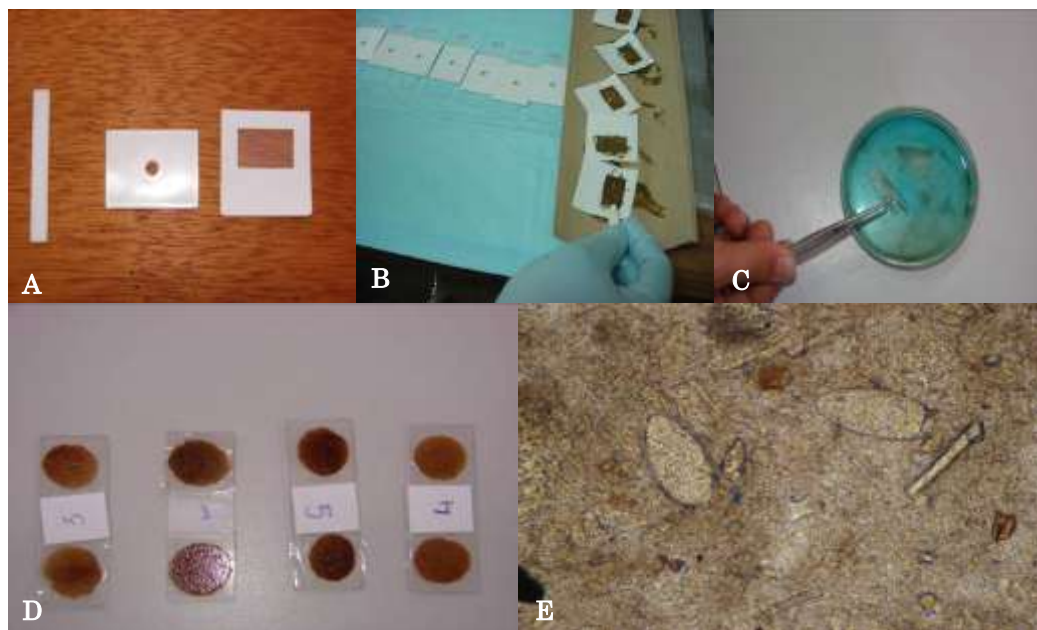


FIGURA 16 – Método de Kato-Katz. **A.** Helm-test®, **B.** Recolhimento das fezes que atravessam a malha, **C.** Papel celofane emergido em solução verde malaquita 3%, **D.** Lâminas preparadas. **E.** Observação dos ovos de *S. mansoni*.

5.7 ESPLENECTOMIA

Noventa dias da infecção cercariana, parte dos camundongos esquistossomóticos e controles foram submetidos à laparotomia mediana, com esplenectomia total convencional. Para isso foi realizada cirurgia aberta. Após anestesia geral com solução cloridrato de xilazina 2% (10 mg/Kg) e cloridrato de cetamina 10% (115 mg/Kg), cada camundongo foi colocado em decúbito dorsal semilateral direito e utilizada incisão subcostal esquerda. Posteriormente ao acesso da cavidade abdominal, realizou-se a inspeção à procura de baço acessório e palpação para detectar aderência deste órgão, o que poderiam causar lacerações e sangramentos. Procedeu-se, então, com dissecação do ligamento gastroesplênico e ligadura dos vasos gástricos curtos. Localizou-se a artéria esplênica, com posterior reparo e ligadura, fazendo-se compressão do baço (autotransfusão), que possibilitou o retorno de grande parte do sangue à circulação sistêmica. O baço foi mobilizado medialmente, fazendo-se secção dos ligamentos. Realizou-se a dissecação da veia esplênica, seguida de reparo e ligadura. Finalizou-se a cirurgia com a dissecação do pedículo vascular, cuidadosamente para evitar lesões no pâncreas e exérese do órgão, seguida de nova inspeção da cavidade e síntese da parede abdominal (FIGURAS 17A, 17B, 17C, 17D, 17E e 17F). Este procedimento foi realizado da mesma forma que o observado em SIQUEIRA et al., 2010.

A fase crônica da infecção esquistossomótica murina é considerada completamente estabelecida a partir da 12ª semana da exposição cercariana (FALLON, 2000; PEARCE, MCDONALD, 2002). Por essa razão, os camundongos foram esplenectomizados após 13 semanas da infecção por *S. mansoni*.



FIGURA 17 – Esplenectomia em camundongos. **A.** Incisão subcostal esquerda, **B.** Identificação do baço, **C.** Dissecção, ligadura, secção do hilo e vasos acessórios, **D.** Exérese do órgão, **E.** Síntese, **F.** Baço.

5.8 EUTANÁSIA E ESTUDO DA TRANSLOCAÇÃO MICROBIANA

Uma semana pós-esplenectomia, todos os camundongos foram submetidos a *overdose* anestésica para coleta de amostras biológicas. O tempo de sete dias pós-

esplenectomia foi estabelecido para eutanásia devido à debilidade dos camundongos, principalmente os esquistossomóticos (ALBERTI et al., 2007).

Antes da coleta foi realizada rigorosa assepsia da cauda e de todo o corpo do animal, com Iodopovidona 1% para evitar contaminação das amostras e/ou tubo com a microbiota do camundongo. Além disso, para laparotomia, realizou-se jogos separados de pinças e tesouras. O estudo da translocação bacteriana está de acordo com o realizado por TORRES et al. (1999), ÇELIK et al. (2005) e GENÇAY et al. (2008). Primeiramente foi retirado sangue periférico (0,5mL) por punção caudal e, posteriormente, realizada incisão mediana xifo pubiana com auxílio de tesoura cirúrgica.

Foram coletados na seguinte ordem, fragmentos do baço (grupos não esplenectomizados), fragmentos do fígado, sangue porta, linfonodos mesentéricos na região média do intestino delgado, fragmentos da porção distal do intestino e as fezes nesta região. Para aspiração do sangue da veia porta utilizou-se agulha 13 x 4,5 acoplada a seringa descartável de 1 mL.

Todo material coletado foi submetido ao cultivo para verificação do crescimento de micro-organismos. Fragmentos do baço, fígado e linfonodos mesentéricos foram macerados e homogeneizados separadamente em placas de Petri estéreis. As amostras foram acrescidas de *BHI* (Infusão de cérebro e coração - 1:5), incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24 horas e semeadas em placas de Petri contendo meios de cultivo específicos para cada grupo bacteriano. A observação das placas foi realizada após 24-72 horas de incubação. Com o crescimento nas placas de cultura, as espécies bacterianas foram identificadas por testes bioquímicos convencionais e confirmadas em equipamentos automatizados (VITEK 2, *Biomerieux*® e/ou Microscan® Autoscan-4®).

5.9 AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DO PESO PONDERAL E PESO ESPLÊNICO

A evolução do peso corporal dos animais foi registrado no antes da infecção cercariana (35 dias de nascidos), após Kato-Katz (80 dias de nascidos), antes da esplenectomia (125 dias de nascidos) até a eutanásia (132 dias de nascidos). O peso foi medido em balança eletrônica (Marte, Mod. 1001, com capacidade para 1610g e sensibilidade até 0,1g). O registro dos pesos de cada animal foi realizado em protocolo individual.

Os baços dos animais foram retirados na eutanásia e pesados, os resultados foram expressos em gramas (g). Apenas nos camundongos não esplenectomizados, fragmentos do baço foram retirados, posteriormente a pesagem, para estudo da translocação microbiana.

5.10 RECUPERAÇÃO DOS VERMES ADULTOS

Após a coleta das amostras biológicas realizou-se a perfusão do sistema venoso portal e veias mesentéricas para recuperação dos vermes adultos, de acordo com a técnica PELLEGRINO, SIQUEIRA (1956) e DUVALL, DE WITT (1967). Ao final foi obtida a quantificação dos vermes adultos classificados em machos e fêmeas.

5.11 AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL

Para determinação do número de unidades de colônias bacterianas por grama de fezes (UFC/g) utilizou-se o mesmo método adotado por NAABER et al. (1998) e BISSO (2008). Nos tubos contendo amostras fecais foi acrescentada solução salina estéril/NaCl 0,9% (1:10). Após homogeneização mecânica, obteve-se diluição inicial 10^{-1} , seguida de diluições seriadas, até diluição de 10^{-6} . A partir das cinco diluições preparadas, foram inoculados 0,1 ml de cada diluição na superfície de placas contendo meios cromogênicos (Agar CPS ID®, *Biomerieux*). Espalhou-se o inóculo com auxílio da alça de Drigalsky e, posteriormente, as placas foram incubadas invertidas a 37°C/24 horas. As bactérias foram identificadas de acordo com a morfologia colonial, microscópica e características bioquímicas (KONEMAN et al., 2008). O cálculo UFC foi dado pelo número de colônias detectado no meio de cultura x fator decimal de diluição x 10 (fator para expressar o resultado por grama de fezes, visto que o volume semeado em cada meio foi 0,1mL).

5.12 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA MUCOSA INTESTINAL

Segmentos da região distal do intestino delgado foram seccionados transversalmente e longitudinalmente. As lâminas contendo os cortes sagitais foram coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação morfológica. As variáveis consideradas foram às medidas da altura e área das vilosidades, bem como, a superfície total da área da mucosa (perímetro) (SIQUEIRA et al., 2010). As análises morfométricas foram feitas em microscópio óptico acoplado a videocâmara por observador que desconhecia qualquer

dados sobre o grupo dos animais. As imagens capturadas foram armazenadas em computador e analisadas pelo software *Image J*. As medições foram feitas em pixels (unidade de resolução de imagem) e obtidas pela média aritmética de cinco medidas do segmento intestinal examinado, escolhendo-se sempre as glândulas melhor orientadas em cada corte.



6. ARTIGOS

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.”

Fernando Pessoa

6.1 PRIMEIRO ARTIGO



INFECÇÕES BACTERIANAS NA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Bacterial infections in schistosomiasis mansoni: Systematic review

Kedma de Magalhães Lima¹, André de Lima Aires², Bruno Henrique Andrade Galvão²,
Carlos Roberto Weber Sobrinho³ & Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁴

¹Mestre e Doutoranda em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco.

²Mestre e Doutorando em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco.

³Mestre em Patologia. Doutorando em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco.

⁴Professora Associada. Departamento de Medicina Tropical/Microbiologia e Imunologia, responsável pelo setor de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA/UFPE.

Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.
Cidade Universitária, CEP: 50670-901 - Recife, PE, Brasil. kedma.biom@gmail.com

RESUMO: Em regiões endêmicas, a esquistossomose mansônica é responsável por alta taxa de morbimortalidade. Estas taxas aumentam ainda mais devido à infestação do sistema hepático e coinfeções por bactérias e outros micro-organismos. No presente trabalho, estudos sobre a associação entre esquistossomose mansônica e doenças bacterianas são apresentados e os autores avaliam e discutem os principais tipos de bactérias envolvidas, as causas do desenvolvimento da infecção secundária, além da prevalência das manifestações clínicas.

UNITERMOS: Esquistossomose, coinfeções, bacteremia, translocação, infecções bacterianas.

INTRODUÇÃO

No Brasil, em virtude da grande diversidade geográfica, climática, econômica e social que se reflete na imensa variedade de parasitas encontrados no país, a esquistossomose é uma das mais significativas endemias parasitárias; representando grave problema sanitário, com estimativas de que existam cerca de seis milhões de pessoas infectadas, principalmente no Nordeste e em Minas Gerais¹.

A mortalidade por esquistossomose mansônica ocorre principalmente na fase crônica da doença. Na forma hepatoesplênica, as manifestações clínicas são decorrentes da hipertensão portal e as principais complicações são ascite e formação de varizes gastresofágicas que, quando rompem, resultam em hemorragias graves e, muitas vezes, fatais. Além disso, ocorre predomínio da resposta imunológica Th2, que se sobressai à resposta Th1, podendo provocar imunodeficiência relativa². A IFN- γ estimula a destruição intracelular de micro-organismos pelas células fagocíticas, assim, o perfil Th1 constitui resposta normal às infecções bacterianas, fúngicas e virais conferindo resistência³. Ao contrário, a resposta Th2 associa-se com hipersensibilidade, pois IL-4 estimula produção de IgE pelas células B e IL-5, proliferação de eosinófilos⁴. Desta forma, o comprometimento das defesas do hospedeiro aumenta a susceptibilidade às infecções. Os patógenos que conseguem escapar dos mecanismos microbicidas dentro do organismo humano encontram situação privilegiada, podendo sobreviver, multiplicar-se e levar a coinfeções, com alterações patológicas crônicas.

O objetivo desse estudo foi levantar dados da literatura que evidenciam presença de infecções bacterianas na esquistossomose, bem como analisar os principais tipos de bactérias encontradas, as causas do desenvolvimento da infecção secundária, além da prevalência das manifestações clínicas. E assim, contribuir para decisões frente aos processos de coinfeções em pacientes com doença crônica.

MÉTODOS

Nós conduzimos revisão sistemática de estudos que avaliaram associação da esquistossomose mansônica e infecções bacterianas. O objetivo primário foi verificar as principais espécies envolvidas nos processos infecciosos. A revisão sistemática tem como uma das finalidades identificar temas que necessitam de evidência, auxiliando na orientação para investigações futuras⁵.

Busca na literatura

Para identificação de estudos relevantes, realizamos busca nos últimos sessenta anos (1950 para 2011) nas bases de dados: MEDLINE, LILACS e EMBASE analisando a relação entre esquistossomose e infecções bacterianas. Os estudos foram selecionados em todos os idiomas e os seguintes termos (em inglês) foram utilizados para busca, isoladamente ou em associação: *schistosomiasis mansonii*, *association*, *coinfection*, *bacterial infection*. Também pesquisamos e selecionamos publicações listadas nas referências bibliográficas dos artigos elegidos para complementar a investigação.

Critérios de inclusão e exclusão

O critério de inclusão para as referências ocorreu da seguinte maneira: (1) estudos epidemiológicos (série de casos, transversal, caso-controle ou coorte) sobre infecções microbianas na esquistossomose mansônica crônica (2) publicados em inglês, português ou espanhol entre 1950 e 2011. Os artigos foram estudados quanto ao tipo de bactéria infecciosa, tipo de patologia causada pela coinfeção e quando informado, as formas de aquisições da doença secundária. Trabalhos experimentais, inclusive com inoculação bacteriana para indução de infecção, e as revisões bibliográficas encontradas foram utilizados apenas na discussão dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossa estratégia de busca gerou 29 artigos científicos, sendo todos de estudos descritivos que preencheram completamente os critérios de inclusão, e foram selecionados para revisão (Quadro 1). Alguns estudos descreviam mais de um caso de paciente coinfectado, assim com base nos 29 artigos, somamos 227 casos que apresentavam infecções bacterianas na esquistossomose mansônica. Não foi possível analisar os resultados de acordo com idade, sexo e gravidade da doença crônica, pois alguns estudos não relatavam estes dados.

Dos 227 casos observados nos 29 artigos científicos, em 55% houve coinfeção por esquistossomose e enterobactérias, principalmente *Salmonella* sp, sendo que em um paciente ocorreu associação com dois tipos de bactérias, *Salmonella* e Micobactéria (Gráfico 1).

As principais manifestações clínicas observadas nestes 227 casos foram enterobacteriose septicêmica prolongada (28%), gastrite (28%) e doença renal (19%). Alguns estudos relataram uma mesma manifestação clínica causada por diferentes gêneros bacterianos (Gráfico 2).

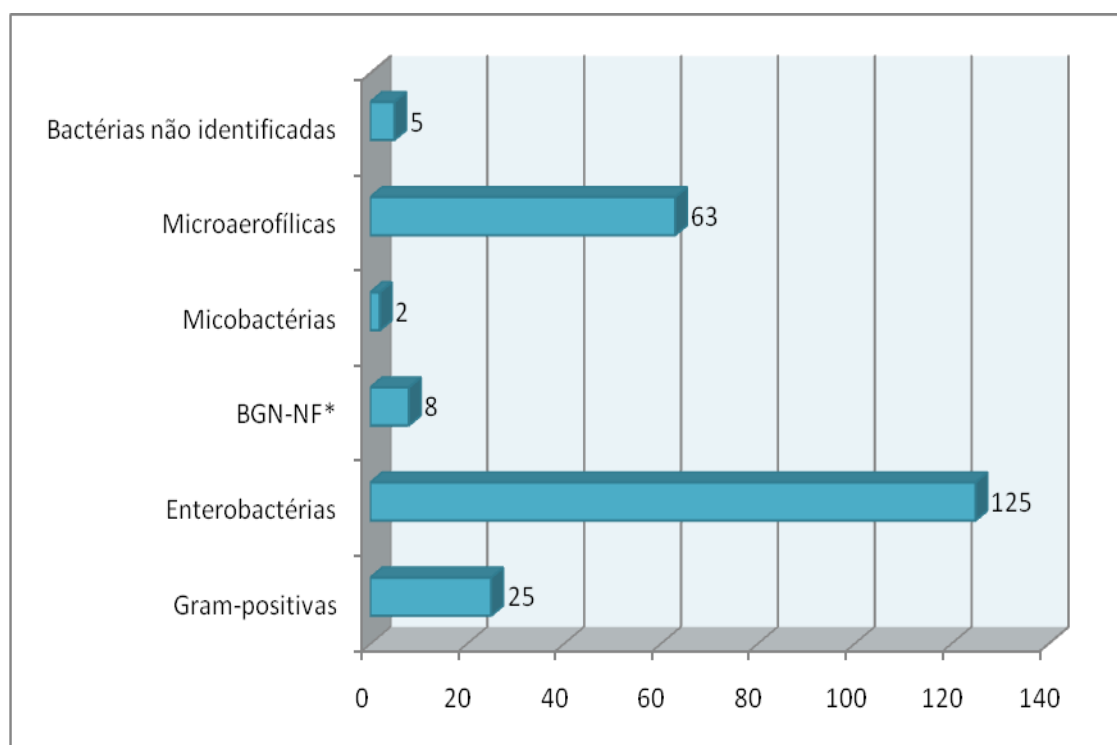
QUADRO 1: Estudos que relatam infecção bacteriana na esquistossomose mansônica, entre 1950 e 2011.

Ano	Autores	País	Casos	Bactérias associadas	Manifestações clínicas
1950	GRAHAM & ORR ²⁸	Inglaterra	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abscesso hepático
1954	FERREIRA ⁷	Brasil	29	<i>Salmonella typhi</i>	Salmonelose septicêmica prolongada
1967	NEVES & MARTINS ⁷⁸	Brasil	12	<i>Salmonella sp</i>	Salmonelose septicêmica prolongada
1971	ROCHA, KIRK & HEAREY ⁷⁹	Brasil	11	<i>Salmonella sp</i>	Salmonelose septicêmica prolongada
1975	HIGASHI et al ⁸⁰	Egito	13	<i>Salmonella sp</i>	Síndrome Nefrótica
1976	TEIXEIRA, BINA & BARRETO ¹⁵	Brasil	1	<i>Escherichia coli</i>	Septicemia prolongada
1976	FERREIRA, BASSOI & SHIROMA ⁸¹	Brasil	7	<i>Salmonella sp</i>	Salmonelose septicêmica prolongada
1978	STRAUSBAUGH et al ⁸²	Egito	2	<i>Salmonella paratyphi A</i>	Amiloidose renal e síndrome nefrótica
1984	FARID, TRABOLSI & HAFEZ ¹⁶	Egito	1	<i>Escherichia coli</i>	Bacteremia
1985	YASUDA et al ⁹	Brasil	5	<i>Salmonella sp</i>	Salmonelose septicêmica prolongada
1987	LAMBERTUCCI et al ¹⁰	Brasil	20	<i>Salmonella sp</i>	Envolvimento Renal
1988	LAMBERTUCCI et al ⁸³	Brasil	3	<i>Salmonella sp</i>	Glomerulonefrite
1990	LAMBERTUCCI et al ³⁰	Brasil	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Pústulas na pele e múltiplos abscessos piogênicos
1991	HENNEQUIN, BOUREE & HALFON ⁸⁴	França	1	<i>Salmonella paratyphi A</i>	Infecção urinária
1991	LAMBERTUCCI, RAYES & GERSPACHER-LARA ⁵⁵	Brasil	2	<i>Salmonella sp</i>	Sinais e sintomas inespecíficos (Esquistossomose/Aids)
1992	NISHIOKA, FERREIRA & BURGARELLI ¹⁴	Brasil	1	<i>Serratia marcescens</i>	Sudorese, calafrios e diarreias
1993	LAMBERTUCCI & NEVES ³⁷	Brasil	1	<i>Salmonella e Mycobacterium</i>	Necrose hepática e Tuberculose disseminada
1995	LIMA & MALUF ³⁵	Brasil	1	<i>Escherichia coli</i>	Abscessos hepáticos piogênicos múltiplos
1996	TEIXEIRA ⁸⁵	Brasil	3	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abscessos hepáticos piogênicos múltiplos
2001	TEIXEIRA et al ³²	Brasil	17	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abscessos hepáticos
2001	LAMBERTUCCI, RICHARD-LIMA & SERUFO ³¹	Brasil	1	*	Abscesso piogênico hepático
2002	BRANDT ²⁶ et al	Brasil	9	<i>Helicobacter pylori</i>	Gastrite

2003	SANCHEZ-OLMEDO et al ⁸⁶	Espanha	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bacteremia
2004	ELSHAL et al ⁸⁷	Egito	34	<i>Helicobacter pylori</i> <i>Escherichia coli</i> (6) <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (5) <i>Enterobacter cloacae</i> (3) <i>Proteus mirabilis</i> (2) <i>Citrobacter freundii</i> (2) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2) <i>Salmonella sp</i> (1) <i>Klebsiella pneumonia</i> (1) <i>Streptococcus faecalis</i> (1)	Gastrite
2005	FERRAZ et al ²⁰	Brasil	23		Bactérias em linfonodos mesentéricos
2005	GOLDANI et al ²²	Brasil	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abscessos piogênicos no fígado
2007	BASILE et al ³⁸	França	1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Nódulos epigástricos
2008	ABOU et al ²⁶	Egito	20	<i>Helicobacter pylori</i>	Gastrite
2010	RODRIGUES et al ⁸⁸	Brasil	4	*	Glomerulonefrite

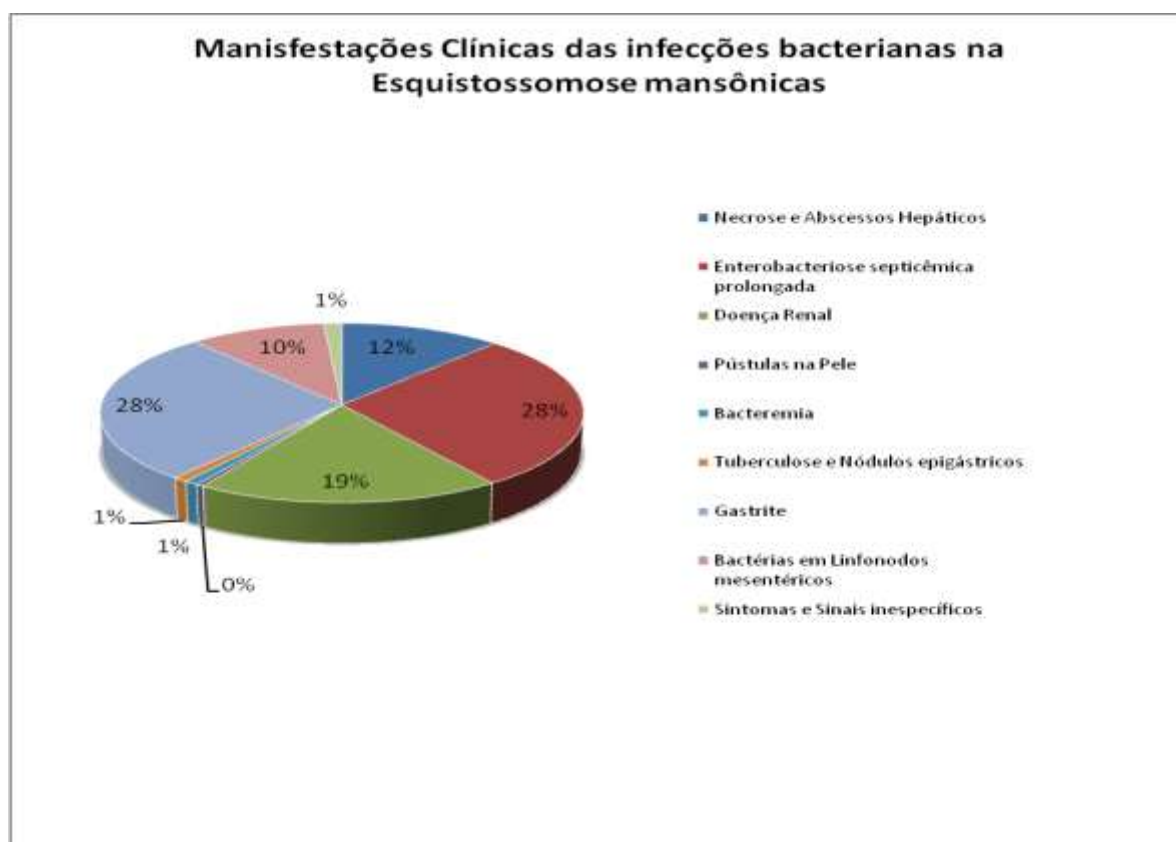
*Não houve identificação bacteriana

GRÁFICO 1: Número de bactérias envolvidas em coinfeções com Esquistossomose mansônica crônica, segundo dados da literatura de 1950 a 2011.



*BGN-NF: Bacilos gram-negativos não fermentadores

GRÁFICO 2: Manifestações clínicas das infecções bacterianas na Esquistossomose mansônica crônica, segundo dados da literatura de 1950 a 2011.



Bactérias envolvidas em coinfeções com Esquistossomose

Enterobactérias

Enterobacteriose septicêmica prolongada é decorrente de infecção por enterobactérias, facilitada pela presença do verme e pela disfunção hepática, podendo ocorrer febre de longa duração, diarreia, emagrecimento, dores abdominais, palidez, edemas e petéquias nos membros inferiores⁶. No Brasil, o primeiro caso de bacteremia prolongada na esquistossomose hepatoesplênica foi observado por FERREIRA⁷, e definitivamente demonstrado por NEVES⁸, que detectou, através de hemoculturas seriadas, presença persistente da bactéria na corrente sanguínea por até 113 dias.

Pelos estudos clínicos realizados em São Paulo, Bahia e Minas Gerais ficou caracterizado que indivíduos coinfectados com *Salmonella typhi* e *S. mansoni*, além de apresentarem, na grande maioria, forma hepatoesplênica, demonstravam quadro clínico de

febre com calafrios que podia durar meses, com perda de peso e hepatoesplenomegalia acentuadas, e até casos de envolvimento renal^{9 10}. Esse quadro apresentava-se diferente do clássico da febre tifóide e da septicemia por bacilos gram-negativos, assemelhando-se mais às infecções que acometem o sistema de fagócitos mononucleares, tal como o calazar¹¹. MUNIZ-JUNQUEIRA, TOSTA, PRATA¹², relatam os estudos que reportam associação da salmonelose septicêmica prolongada e esquistossomose, além de mencionar mecanismos de imunopatogenicidade e discutir a aquisição da *Salmonella*.

Alguns fatores de coinfeção *S. mansoni* e *Salmonella* sp no organismo humano, também são válidos para associação com outras espécies, como carga bacteriana, sorotipo, virulência, capacidade invasiva e fatores relacionados à resistência do hospedeiro, particularmente os de natureza imunológica¹². Entre os fatores relacionados ao hospedeiro humano, identificados como importantes na maior ou menor resistência à infecção por salmonelas, incluem-se idade, presença de flora intestinal equilibrada e concomitância de certas doenças¹³.

NISHIOKA, FERREIRA, BURGARELLI¹⁴, descreveram o primeiro caso de associação de bacteremia por *Serratia marcescens* e esquistossomose mansônica. O paciente, sexo masculino, possuía 21 anos, queixas de febre, sudorese, calafrios e diarreia por quatro dias consecutivos. Segundo estes autores, o caso não se enquadra na definição clássica de bacteremia prolongada associada à esquistossomose, entretanto, os autores consideraram forma leve da associação.

Desde 1976, associação *S. mansoni* e *Escherichia coli* tem sido descrita¹⁵. No Egito, foram observados casos de esquistossomose e febre prolongada devido bacteremia por *E. coli*, que também pôde ser detectada no trato urinário¹⁶. Posteriormente, pesquisas experimentais, foram realizadas por outros autores, que demonstraram aumento das infecções por gram-negativas nesta helmintíase^{17 18 19}.

FERRAZ²⁰ et al. sugeriram a presença de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos como consequência da translocação bacteriana, fato que pode desempenhar papel no desenvolvimento de complicações infecciosas em esquistossomóticos. A incidência global de infecções pós-operatórias apresentou associação significativa com culturas positivas, demonstrando importância da pesquisa de gram-negativos em amostras biológicas de pacientes com doença crônica, além do uso profilático de antibióticos.

Bacilos gram-negativos não-fermentadores (BGN-NF)

Estudos demonstrando associação entre esquistossomose e bactérias não-fermentadoras são raros. *Pseudomonas aeruginosa* é bactéria gram-negativa aeróbica, não-fermentadora, que se apresenta sob forma de bastonetes isolados ou aos pares, movidos por flagelos polares. Esta espécie comumente habita solo, água e vegetais, e faz parte da microbiota normal, podendo ser encontrada na pele, garganta e nas fezes de indivíduos sadios²¹. GOLDANI²² et al. descreveram relato de paciente brasileiro com esquistossomose mansônica crônica que desenvolveu recorrentes abscessos piogênicos no fígado por *Pseudomonas aeruginosa*. FERRAZ²⁰ et al., analisando linfonodos mesentéricos de pacientes esquistossomóticos, observou presença, não apenas de *Pseudomonas aeruginosa*, mas *Acinetobacter calcoaceticus*, esta última envolvida em processo infeccioso pós-cirúrgico.

Microaerofílicas

Várias pesquisas sobre modo de transmissão de *Helicobacter pylori* estão sendo desenvolvidas, e pode-se dizer que esta é uma das áreas mais estudadas, discutidas e controvertidas desse micro-organismo. As vias de infecção mais aceitas atualmente incluem fecal-oral e oral-oral²³. Não há possibilidade de transmissão através do ato sexual comum, e infecção por insetos vetores é praticamente nula²⁴. Em esquistossomóticos hepatoesplênicos, pesquisa de *H. pylori* em biópsia gástrica é positiva em cerca de 40% dos casos e, essa infecção modifica o infiltrado inflamatório da gastrite em todos os casos em que a bactéria está presente²⁵. No Egito, ABOU²⁶ et al., estudou o impacto da coinfeção *S. mansoni* na gastrite induzida por *H. Pylori*, e observou que gastrite grave foi significativamente mais comum em pacientes infectados exclusivamente com *H. pylori*.

Considerando que paciente esquistossomótico é suscetível a infecção pelo *H. pylori*, BRANDT²⁷ et al., observaram que a prevalência aumenta, no seguimento, em longo prazo, em pacientes submetidos a esplenectomia e ligadura da veia gástrica esquerda com autoimplante de tecido esplênico no omento maior. Concluindo que esses pacientes poderiam ter sido curados da infecção por *H. pylori* no pós-operatório imediato, e que o aumento de prevalência da infecção gástrica poderia ter representado história natural de re-infecção.

Cocos gram-positivas

Em pacientes com doença crônica, frequência de infecções secundárias por *Staphylococcus aureus* não é incomum. GRAHAM, ORR²⁸ descreveram primeiro caso de oficial inglês que desenvolveu abscesso hepático por *S. aureus* associado à esquistossomose, e sugeriram que lesão hepática pode ter facilitado instalação de infecções secundárias. Posteriormente, alguns estudos concluíram que granulomas hepáticos favorece colonização por *S. aureus* e bacteremia pode dar origem aos abscessos hepáticos^{29 30 31 32}. Da mesma forma, SANCHEZ-OLMEDO³³ et al. relataram coinfeção com *S. aureus*, responsável por bacteremia secundária a abscesso hepático. De acordo com estudos clínicos e relatos de casos observados, esquistossomose mansônica é fator predisponente para formação do abscesso piogênico do fígado, sendo bacteremia processo primário ou secundário ao abscesso. Em estudos experimentais a esquistossomose associada à bacteremia por *S. aureus* favorece colonização do fígado pela bactéria, com posterior formação de abscesso piogênico, e hemoculturas nem sempre positivas^{34 35}. O tratamento para esquistossomose, antes do tratamento da bacteremia, não impedem formação do abscesso³².

Geralmente, abscessos hepáticos são causados principalmente por bactérias gram-negativas, em especial *Escherichia coli*, seguido por gram-positivos, principalmente *Streptococcus viridans*, e anaeróbios, com predominância de *Fusobacterium*³⁶. É interessante observar que na literatura atual, em pacientes esquistossomóticos não há relatos de casos por anaeróbios e geralmente evidenciam-se gram-positivos^{28 29 30}. Mecanismo de adesão local explicaria a maior incidência do *S. aureus* na patogênese do abscesso hepático na hepatoesplenomegalia³².

Micobactérias

Quase não existem relatos a respeito da coinfeção com *S. mansoni* e *Mycobacterium tuberculosis*, apesar da alta incidência das duas infecções, principalmente no continente Africano. No Brasil, LAMBERTUCCI, NEVES³⁷, relataram caso de paciente com associação de *Schistosoma*, *Salmonella* e *Mycobacterium*. O paciente foi a óbito, e a coinfeção com tuberculose diagnosticada apenas durante autópsia. BASILE³⁸ et al., relataram caso de homem, 32 anos, com dor abdominal isolada e biópsia retal apresentando granuloma em torno dos ovos do *S. mansoni*. Além disso, foram

diagnosticados quatro nódulos epigástricos representativos de linfadenite granulomatosa com necrose. Na pesquisa microbiológica foram encontrados bacilos álcool-ácidos resistentes com cultura positiva para *M. tuberculosis*.

Reverendo a literatura sobre associação *Shistosoma* e *M. tuberculosis*, não se sabe ao certo a relação potencial na coinfecção, especialmente à imunofisiopatologia. A incidência de doenças por micobactérias é alta e a eficácia do Bacilo Calmette Guérin (BCG) é baixa nas regiões onde as infecções crônicas por esta bactéria é comum. No entanto, se as infecções por helmintos podem afetar a imunidade do paciente, não está elucidado a associação do *Schistosoma* com as respostas imunes para combater as micobactérias.

Em estudo experimental, ELIAS³⁹ et al., investigaram se infecção esquistossomótica pode afetar a habilidade dos camundongos em controlar infecção por *Mycobacterium bovis* inoculados via intravenosa e estimular resposta imune a antígenos micobacterianos. Os resultados mostraram que camundongos coinfectados possuíam níveis significativamente mais elevados de bacilos em seus órgãos e apresentavam maior patologia pulmonar quando comparado aos controles apenas com *Schistosoma*. A infecção crônica pode afetar a resistência/suscetibilidade a doença por micobactérias, prejudicando respostas do tipo Th1. Esta descoberta é potencialmente importante no controle da tuberculose em países onde a esquistossomose é endêmica.

Apesar dos relatos envolvendo a associação *Schistosoma* e bactérias, o enfoque é mais central em determinadas espécies microbianas, como *Salmonella* e *Helicobacter pylori*, o que pode ser devido à maior frequência dos casos. Entretanto, é importante ressaltar que um dos fatores que favorecem esta associação é a imunodepressão provocada pela *S. mansoni*². Esse fenômeno pode influenciar coinfecção por outros agentes oportunistas, como anaeróbios e fungos. Não observamos trabalhos na literatura que demonstrassem essa associação, devendo muitas vezes passar despercebida.

Fatores facilitadores das infecções bacterianas na esquistossomose

Apesar das infecções por bactérias serem influenciadas pela carga bacteriana, sorotipo, virulência e capacidade invasiva, para pacientes esquistossomótico, outros fatores relacionados ao hospedeiro devem ser levados em consideração.

Imunodepressão causada pela esquistossomose

Os macrófagos são fagócitos estimulados pela IFN- γ , que na doença crônica apresenta produção diminuída. O efeito da intensidade da infecção sobre produção de IFN- γ , IL-10 e IL-13 por polimorfonucleares de indivíduos residentes em área endêmica foi avaliado por SILVEIRA⁴⁰ et al., que observaram que níveis de IFN- γ diminuem gradualmente com aumento da intensidade da infecção, decisivo para produção de IL-10 e dominância de resposta imunológica Th2. Outro mecanismo relacionado à inibição da síntese de IFN- γ por IL-10 é que esta citocina é capaz de inibir síntese de IFN- γ pelas células *Natural Killers*, mecanismo essencial para derivação da resposta imunológica para o tipo Th1⁴¹. Como descrito anteriormente, na esquistossomose crônica ocorre diminuição de IFN- γ , provocando maior susceptibilidade as infecções microbianas.

Estudos *in vivo* e *in vitro* sugerem que na doença crônica aproximadamente 40% dos macrófagos não conseguem fagocitar e entre os que fagocitam, ocorre deficiência acentuada da capacidade de destruição bacteriana, indicando possibilidade de algumas sobreviverem e multiplicarem-se no citoplasma dos macrófagos, levando a ativação crônica do sistema fagocítico⁴². As funções fagocitárias e microbidas dos macrófagos são fundamentais para defesa do organismo. Estas células possuem vários mecanismos alternativos que se completam e funcionam concomitantemente, como enzimas proteolíticas, acidificação do fagolisossoma, peptídeos catiônicos, proteínas que ligam ferro, e radicais de oxigênio e nitrogênio para destruir os micro-organismos fagocitados⁴³. Os patógenos que conseguem escapar a esses mecanismos microbidas se encontram em situação privilegiada para condução de alterações patológicas crônicas.

Formação de granulomas e disfunção de órgãos pelo S. mansoni

Em revisão bibliográfica, acerca das ocorrências de casos agudos e crônicos da doença no Brasil, de 1997 a 2006, evidenciam-se poucas pesquisas com enfoque nas formas clínicas da esquistossomose, o que denota falta de interesse ou de estímulo à investigação sobre o tema. Como consequência, existe carência na repercussão sobre gravidade da doença no Brasil e inadequadas ou escassas são as políticas de investimentos em saneamento básico e ambiental. Tais políticas teriam poder em minimizar a ocorrência desse agravo, melhorando qualidade de vida das populações menos favorecidas⁴⁴.

Na fase crônica, formação de granulomas ao redor dos ovos no fígado dificulta progressivamente drenagem sanguínea da veia porta, aumentando pressão venosa retrógrada e desencadeando surgimento de circulação colateral⁴⁵. Com isso, parte do sangue venoso proveniente dos mesentéricos passa diretamente para circulação sistêmica sem sofrer processo de filtração pelas células de Kupffer nos sinusóides hepáticos. Simultaneamente, pode ocorrer aumento progressivo do baço devido à congestão venosa e à hiperplasia⁴⁶. Portanto, fígado e baço, órgãos ricos em células do sistema fagocitário mononuclear e fundamentais na defesa do hospedeiro contra infecções bacterianas, ficam comprometidos por alterações anatômicas e funcionais importantes³ (Figura 1).

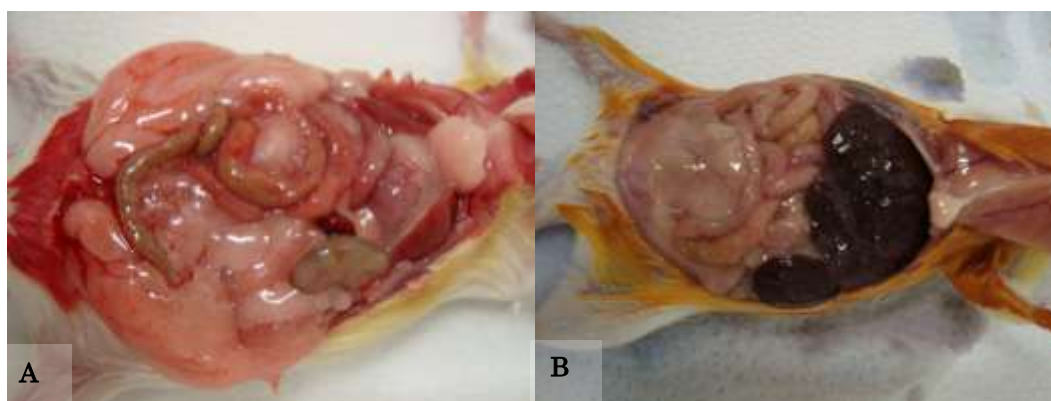


FIGURA 1: Aparência do peritônio em camundongo não parasitado (A) e em camundongo com esquistossomose crônica (B).

Granulomas provocados pelo *S. mansoni* no fígado são focos de colonização para bactérias como *S. aureus* e *E. coli*, e na presença de bacteremia facilita a formação de abscessos hepáticos³². Alguns mecanismos têm sido propostos como provável explicação para a associação da esquistossomose e abscessos piogênicos do fígado: (1) fígado necrosado causada por vermes mortos ou ovos poderia ser colonizado por bactérias; (2) presença de imunidade transitória mediada por célula na fase aguda em modelos animais⁴⁷; (3) a literatura contém vários casos de infecções recorrentes por *S. aureus* com altos níveis séricos de IgE, que também podem ser relatados na esquistossomose aguda⁴⁸
⁴⁹.

Ascite, na doença hepática crônica, sinaliza que a doença está avançada e relaciona-se ao aparecimento de outras complicações da cirrose, como hemorragia por varizes

esofágicas e encefalopatia hepática (Figura 2). Além de outras complicações, ascite pode levar à infecção do líquido ascítico, causando peritonite bacteriana espontânea, que pode ser severa e com alta mortalidade se não tratada adequadamente⁵⁰.



FIGURA 2: Ascite em camundongo com esquistossomose mansônica crônica.

Interação entre esquistossomose e outros patógenos não-bacterianos

Em artigo de revisão sobre associação de esquistossomose e vírus da hepatite B, C e D, SERUFO, LABERTUCCI⁵¹ apresentam e discutem estudos relacionados com o tema, além de demonstrar limitações de cada um. Indivíduos com formas graves da esquistossomose e que necessitam hospitalização, tratamento cirúrgico e terapia parenteral, incluindo transfusões de sangue ou hemoderivados, são expostos a vírus. Estes mesmos fatores podem expô-los a bactérias agentes de infecções hospitalares, como *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* e *S. marcescens* multirresistentes a antibióticos de amplo espectro⁵².

Em artigo de revisão a respeito da coinfeção esquistossomose e HIV-1, SECOR⁵³ observou que ambas infecções exercem efeitos bi-direcional e justifica a especial ênfase no tratamento ou prevenção da esquistossomose em infectados com HIV-1, ou alto risco de infecção. Vários estudos têm discutido os efeitos da Aids na esquistossomose, assim como os efeitos da esquistossomose na Aids^{53 54} e até mesmo com outras infecções associadas⁵⁵. Esses trabalhos mostram que há diminuição da excreção de ovos nas fezes e

aumento da retenção dos mesmos em tecidos na presença dos níveis diminuídos de linfócitos TCD4+, o que de fato, poderia aumentar formação de granulomas, disfunção de órgão e bacteremia por *E. coli* e *S. aureus*.

No colo uterino, há hipóteses de que alterações causadas pela resposta inflamatória e imune aos ovos de *Schistosoma* possam facilitar transmissão e progressão de outras doenças sexualmente transmissíveis. Associação de HPV e ovos de *Schistosoma* em HIV-positivo pode alterar a história natural dessas doenças⁵⁶. Assim como no colo uterino, é possível encontrar a interação na região anal⁵⁷. É sabido que intestino e região anal são repletos de várias espécies bacterianas que compõem a microbiota normal, e estas poderiam atuar de forma patogênica nesta interação.

Em estudo a respeito das consequências clínicas e imunológicas do vírus T-linfotrópicos humanos tipo I (HTLV-1) na coinfeção com *S. mansoni*, SANTOS⁵² et al., indicam que HTLV-1 diminui resposta Th2 e síntese de IgE, além disso, é inversamente associado com desenvolvimento da fibrose hepática. Helmintos podem proteger pacientes com HTLV-1, evitando produção de grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , que estimula destruição intracelular de micro-organismos pelas células fagocíticas, facilitando outros tipos de infecções.

Interação entre *Schistosoma* e incapacidade de animais infectados de se livrarem de protozoários é outro ponto que merece ser mencionado. Modelos experimentais mostram maior susceptibilidade de esquistossomóticos a *Plasmodium berghei*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania mexicana*, *Trypanosoma cruzi* e *Entamoeba histolytica*^{58 59 60 61 62}. Dados foram obtidos de escolares simultaneamente infectados por *S. mansoni* e geohelmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *ancilostomideos*). Os resultados ressaltaram importância na implementação das políticas de saúde que contemplem redução a determinantes das infecções parasitárias, mesmo em intensidade leve e moderada, principalmente entre escolares⁶⁴. TZANETOU⁶⁵ et al., relataram caso de esquistossomose hepatoesplênica com hipertensão portal e sangramento de varizes em paciente imigrante do Egito com *Strongyloides stercoralis*. Já ALVES⁶⁶ et al. relataram coinfeção por *Echinococcus* e *S. mansoni* em paciente procedente de área rural da amazônia oriental brasileira. Além disso, os autores reiteraram a importância diagnóstica e do entendimento da ecoepidemiologia regional na abordagem clínica e terapêutica em hepatopatas na Amazônia.

Translocação microbiana via trato digestório

Segundo MACFIE⁶⁷, os fatores que influenciam prevalência da translocação bacteriana são alterações na permeabilidade da mucosa intestinal, microbiota digestória, estado imune, e uma miscelânea de fatores que incluem stress, injúria, variação na motilidade intestinal, radiação e determinados tipo de drogas. Vários estudos em animais têm demonstrado que translocação é fenômeno multifatorial, que pode ser resultado do rompimento do equilíbrio normal da microbiota indígena, que contribui para excessivo crescimento de determinados micro-organismos^{68 69}.

Os micro-organismos mais comumente encontrados em processos de translocação são bacilos entéricos gram-negativos aeróbios e facultativos, que normalmente colonizam o intestino em grande quantidade. Segundo WIEST & RATH⁷⁰, bactérias aeróbias gram-negativas podem translocar com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. Anaeróbicos, translocam apenas em situações que o intestino se encontra estruturalmente danificado. Além disto, estas bactérias formariam um tapete, revestindo a superfície mucosa, impedindo colonização por micróbios potencialmente invasores⁷¹. Estudos mostram que microbiota intestinal pode causar doença sistêmica em indivíduos imunossuprimidos, sem outras condições associadas. Isto leva a crer que disfunção imune promove primariamente translocação⁷⁰.

A ocorrência de translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos em animais saudáveis foi observada por pesquisadores e tem sido considerada como parte da estimulação antigênica normal do tecido linfóide associado ao intestino, mesmo na ausência de injúria⁷². Para BERG⁷³, a translocação ocorreria em 3 estágios; no primeiro, bactéria transporia a mucosa intestinal, alcançando linfonodos mesentéricos; no segundo, esta migraria dos linfonodos mesentéricos para outros órgãos, como fígado, baço, pulmões e rins; e no terceiro, a bactéria se disseminaria pela cavidade peritoneal e sangue, provocando quadro septicêmico.

Na presente revisão sistemática, os trabalhos científicos pouco relatam a forma de aquisição da infecção secundária. Para *Salmonella*, estas alojar-se-iam no tegumento e nos intestinos do *S. mansoni* e, intermitentemente, esses micro-organismos seriam lançados na circulação, provocando bacteremia recorrente. No caso do *H. pylori*, o estrato socioeconômico baixo é o maior fator de risco para aquisição natural em países em desenvolvimento⁷⁴, o mesmo ocorrido para *S. mansoni*. Entretanto, para coinfeções por

agentes da microbiota intestinal, a obtenção poderia ser através da translocação bacteriana²⁰.

Em humanos, translocação além de nódulos linfáticos, raramente tem sido estudada. O principal impacto fisiológico seria a passagem através do sistema reticuloendotelial do fígado, que atuaria como filtro de toxinas e bactérias. Contudo, na esquistossomose, a formação de granulomas no fígado dificulta progressivamente a sua fisiologia⁴⁵ e facilita a disseminação de bactérias.

Condições sócio-econômico-culturais

Esquistossomose associada à desnutrição é problema significativo para saúde pública, vitimando, sobretudo, jovens e adultos de grande área geográfica do Nordeste e Sudeste brasileiros⁷⁵. A importância da doença não se restringe à persistência da prevalência e larga distribuição geográfica no mundo. Ela diz respeito, também, ao mecanismo de escape do molusco frente ao moluscocida, precárias condições de moradia e saneamento básico, atividades econômicas ligadas ao uso da água, principalmente em zonas rurais, educação sanitária e adesão aos programas de controle. Além disso, há de se considerar a inexistência de mecanismos naturais de defesa imunológica, bem como de vacina efetiva⁷⁶. Da mesma forma, condições sócio-econômico-culturais em regiões onde prevalece esquistossomose são também altamente propícias à salmonelose, facilitando, assim, infecções secundárias⁷⁷.

As doenças oriundas da falta de saneamento básico são decorrentes da quantidade e qualidade das águas de abastecimento, afastamento e destinação adequada dos esgotos sanitários e resíduos sólidos, ausência de drenagem apropriada para água pluviais e principalmente, falta de educação sanitária. As pessoas que não dispõem de saneamento básico, também estão em maior contato com *Shigella*, *Salmonella* e algumas bactérias consideradas oportunistas, como a *P. aeruginosa* e *Aeromonas* sp.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, as parasitoses intestinais ainda se encontram bastante disseminadas e com alta prevalência. Apesar de OTTENS & DICKERSON¹⁸ demonstrarem que a maioria das bactérias gram-negativas não causam doenças frequentes em esquistossomóticos, já que

estas parasitam e matam o *Schistosoma*; essa revisão sugere que vários outros fatores podem favorecer a associação da esquistossomose com bactérias gram-positivas e gram-negativas.

É importante ressaltar que muitos dos micro-organismos observados nas coinfeções compõem a microbiota normal do paciente esquistossomótico. Desta forma, fazem-se necessários, associado às medidas de controle, novos estudos no sentido de melhor se conhecer a infecção e a dinâmica das interações hospedeiro-parasita. Da mesma forma, entender a associação com processos infecciosos, a fim de obter estratégias que busquem novos instrumentos de controle e de ações deste helminto no organismo humano; e com isso, diminuir a morbidade e mortalidade causadas pelo *S. mansoni*.

Os fatores determinantes da infecção bacteriana, e por outros micro-organismos, dependem da interação peculiar entre agente e hospedeiro. Da mesma forma, o sistema imunitário do hospedeiro, ações mecânicas provocadas pelo verme adulto, ovo espiculado e o favorecimento da translocação bacteriana podem influenciar a instalação e persistência da bactéria, como também, evolução para quadros de sepse. Ainda são poucos os trabalhos que discutam a respeito das doenças secundárias na esquistossomose. A maioria das pesquisas são séries de casos e não investiga a forma da aquisição da coinfeção. Portanto, torna-se importante à realização de estudos com metodologia correta, publicação de dados estatísticos sobre a análise das amostras clínicas de pacientes esquistossomóticos; com a identificação dos micro-organismos envolvidos e as respectivas respostas às drogas utilizadas na rotina médica, principalmente nos casos de infecções secundárias recorrentes. Também, faz-se necessário pesquisas experimentais demonstrando associação entre translocação microbiana e esquistossomose evitando, deste modo, fatores de confundimento.

SUMMARY: In endemic areas, schistosomiasis mansoni is responsible for high mortality rate. These rates are further increased due to infestation of the hepatic system and co-infections by bacteria and other micro-organisms. In this paper, studies on the association between schistosomiasis and bacterial diseases are presented and the authors evaluate and discuss the main types of bacteria involved, the causes of the development of secondary infection, and the prevalence of clinical manifestations.

UNITERMS: Schistosomiasis co-infection, bacteremia, translocation, bacterial infections.

REFERÊNCIAS

1. Domingues ALC, Barreto VST. Esquistossomose hepática. In: Matos AA, Dantas W. Conferência de Hepatologia, São Paulo: Fundo Editorial Byk 2001; 391-405.
2. Wilson MK, Mentink-Kane M, Pesce JT *et al.* Immunopathology of schistosomiasis. *Immunology and Cell Biology* 2007; 85: 148-154.
3. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Celular e Molecular*, 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier 2005.
4. Pearce EJ, Macdonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews* 2002; 2: 499-511.
5. Linde K, Willich SN. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. *Journal of the Royal Society of Medicine* 2003; 96: 17-22.
6. Teixeira R. Enterobacteriose septicêmica prolongada. In: Veronesi R; Focaccia R. *Tratado de infectologia*, 1ª ed. São Paulo, Atheneu, 2002; 669-675.
7. Ferreira JM. Febre tifóide. *Revista de Medicina* 1954; 38: 181-198.
8. Neves J. Salmonelose septicêmica prolongada em face às doutrinas de Kiel e de Montevideu. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1967; 1: 59-68.
9. Yasuda MAS, Carvalho SA, Yasuda PH *et al.* Salmonelose associada à esquistossomose mansônica hepato-esplênica: ação do praziquantel. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1985; 27: 286-91.
10. Lambertucci JR, Rocha RS, Carvalho OS *et al.* A esquistossomose mansônica em Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1987; 20: 47-52.
11. Lambertucci JR, Pereira FAS, Marinho RP *et al.* Associação *Salmonella-S. mansoni*: análise de 104 casos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1991; 24: 76.
12. Muniz-Junqueira MI, Tosta CE, Prata A. Salmonelose septicêmica prolongada associada à esquistossomose: evolução do conhecimento e mecanismos imunopatogênicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2009; 42: 436-445.
13. Hornick RB. Non-typhoid salmonellosis. In: Hoeprich PD. *Infectious Diseases*, 3ª ed, Harper and Row, Philadelphia 1983; 655-661.
14. Nishioka AS, Ferreira MS, Burgarelli MKN. *Serratia marcescens* bacteremia associated with schistosomiasis mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1992; 25: 191-193.
15. Teixeira RS, Bina JC, Barreto SH. Bacterial infection of long duration due to genus *Escherichia* in a patient with *Shistosoma mansoni*. *Revista Médica da Bahia* 1976; 22: 70-74.
16. Farid Z, Trabolsi B, Hafez A. *Escherichia coli* bacteraemia in chronic schistosomiasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1984; 78: 661-662.
17. Rocha H, Magnavita M, Teles ES *et al.* Atividade antibacteriana do soro de pacientes com forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1968; 10: 364-370.
18. Ottens H, Dickerson G. Studies on the effects of bacteria on experimental schistosomiasis infections in animals. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1972; 66: 85-107.
19. Ferraz AAB, Santos Junior MA, Mathias CA *et al.* Modelo de peritonite experimental em camundongos esquistossomóticos. *Acta Cirurgica Brasileira* 1993; 8: 28-31.

20. Ferraz AAB, Campos JM, Araújo Júnior JGC *et al.* Gut Bacterial Translocation and Postoperative Infections: A prospective study in schistosomotic patients. *Surgical Infections* 2005; 6: 197-201.
21. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*, 6ª ed, Elsevier, 2010.
22. Goldani LZ, Santos RP, Sugar AM. Pyogenic liver abscess in patients with Schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2005; 99: 932-6.
23. Marschall BJ. *Helicobacter pylori* in the year 2000. *Helicobacter pylori* Foundation 2000; 50: 1-9.
24. Eslick GD. Sexual transmission of *Helicobacter pylori* via oral-anal intercourse. *International Journal of STD & AIDS* 2002; 13:7-11.
25. Almeida ST, Jucá N, Campelo T *et al.* Gastropatia da hipertensão porta na esquistossomose mansônica: Associação com *Helicobacter pylori*. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco* 1999; 44: 42-43.
26. Abou Holw SA, Anwar MM, Bassiouni RB *et al.* Impact of coinfection with *Schistosoma mansoni* on *Helicobacter pylori* induced disease. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2008; 38:73-84.
27. Brandt CT, Figueiredo JL, Almeida S *et al.* Prevalência de *Helicobacter pylori* em jovens portadores de esquistossomose mansônica na forma hepatoesplênica. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco* 2002; 47: 9-13.
28. Graham JG, Orr JL. Hepatic abscess associated with visceral schistosomiasis. *Lancet* 1950; 1: 714-716.
29. Lambertucci JR, Rayes AAM, Serufo JC *et al.* Schistosomiasis and associated infections. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1998; 93: 135-139.
30. Lambertucci JR, Teixeira R, Navarro MMM *et al.* Liver abscess and schistosomiasis: A new association. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1990; 23: 239-240.
31. Lambertucci JR, Rayes AA, Serufo JC *et al.* Pyogenic abscesses and parasitic diseases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 2001; 43: 67-74.
32. Teixeira R, Coelho PM, Brasileiro Filho G *et al.* Pathogenic aspects of pyogenic liver abscess associated with experimental schistosomiasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001; 64: 298-302.
33. Sánchez-Olmedo JI, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J *et al.* *Schistosoma mansoni* and *Staphylococcus aureus* bacteremia: a deadly association. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1204.
34. Teixeira R, Coelho PMZ, Anjos JM *et al.* Abscesso piogênico do fígado associado à esquistossomose mansônica experimental: I. A importância do ovo de *S. mansoni* na gênese do abscesso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1995; 28: 106.
35. Lima VCP, Maluf FC. Schistosomiasis: predisposing cause for the formation of hepatic abscesses? Case report. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1993; 37: 277-280.
36. Herman P, Salem VPMZ, Machado MAC *et al.* Abscesso hepático piogênico: análise de 51 casos. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina São Paulo* 1994; 49: 234-237.
37. Lambertucci JR, Neves J. Associação *Salmonella-Schistosoma-Mycobacterium*: relato de um caso. *Arquivos Brasileiros de Medicina* 1993; 67: 53-54.

38. Basile D, Bon G, Lecuyer E *et al.* Co-infection *Schistosoma mansoni* and *Mycobacterium tuberculosis*, about a case and literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2007; 5:412-413.
39. Elias D, Akuffo H, Thors C *et al.* Low dose chronic *Schistosoma mansoni* infection increases susceptibility to *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice. *Clinical and Experimental Immunology* 2005; 139: 398-404.
40. Silveira AM, Gazzinelli G, Alves-Oliveira LF *et al.* Schistosomiasis mansoni: intensity of infection differentially affects the production interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-13 by soluble egg antigen or adult antigen stimulated cultures. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2004; 98: 514-9.
41. Kos FJ, Engleman EG. Immune regulation: a critical link between NK cells and CTLs. *Immunology Today* 1996; 17:174-6.
42. Muniz-Junqueira MI, Prata A, Tosta CE. Phagocytic and bactericidal function of mouse macrophages to *Salmonella typhimurium* in schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1992; 46: 132-136.
43. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* 2008; 112: 935-945.
44. Pordeus LC, Aguiar LR, Quirino LRM *et al.* Ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose no Brasil. *Epidemiologia e Serviço de Saúde* 2008; 17:163-175.
45. Prata A. Schistosomiasis mansoni. *Clinics in Gastroenterology* 1978; 7: 49-74.
46. Andrade ZA, Andrade SG. Patologia do baço na esquistossomose hepatoesplênica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1965; 7: 218-227.
47. Araújo FG, Coelho PMZ, Pereira LH *et al.* *Schistosoma mansoni*: impairment of the cell-mediated immune response in mice. *Clinical & Experimental Immunology* 1977; 28: 289-291.
48. Galandiuk S, Gardner SA, Heinzelmann M. Constituent analysis may permit improved diagnosis of intra-abdominal abscess. *The American Journal of Surgery* 1995; 171: 335-339.
49. Lambertucci JR. Hyperimmunoglobulinemia E, parasitic diseases and staphylococcal infection. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1996; 29: 407-410.
50. Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39: 841-856.
51. Serufo JC, Lambertucci JR. Esquistossomose e hepatites virais: uma revisão. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1997; 30: 313-322.
52. Santos SB, Porto AF, Muniz AL *et al.* Clinical and immunological consequences of human T cell leukemia virus type-I and *Schistosoma mansoni* co-infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2004; 99: 121-126.
53. Secor WE. Interactions between schistosomiasis and infection with HIV-1. *Parasite Immunology* 2006; 28: 597-603 2006.
54. McElroy MD, Elrefaei M, Jones N *et al.* Coinfection with *Schistosoma mansoni* Is Associated with Decreased HIV-Specific Cytotoxicity and Increased IL-10 Production. *The Journal of Immunology* 2005; 174: 5119-5123.
55. Lambertucci JR, Rayes AAM, Gerspacher-Lara R. *Salmonella-S. mansoni* association in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1998; 40: 233-235.
56. Prabhakaran VC, Brown LJ. Cervical schistosomiasis and neoplasia in HIV-infected patients. *International Journal of Gynecological Pathology* 2004; 23: 403-4.

57. Carneiro FP, Moraes MAP, Carneiro MV *et al.* Condiloma Acuminado Anal com Ovos de *Schistosoma mansoni* em Paciente HIV-Positivo. *Revista Brasileira de Coloproctologia* 2007; 27: 207-209.
58. Yoeli M. Some aspects of concomitant infections of plasmodia and schistosomes. The effect of *Schistosoma mansoni* on the course of infection of *Plasmodium berghei* in the field vole (*Microtus guentheri*). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1956; 5: 988-999.
59. Kloetzel K, Faleiros JJ, Mendes SR *et al.* Concomitant infection of albino mice by *Trypanosoma cruzi* and *Schistosoma mansoni*. Parasitological parameters. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1973; 67: 652-658.
60. Knight R, Warren KS. The interaction between *Entamoeba histolytica* and *Schistosoma mansoni* infections in mice. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1973; 67: 644-651.
61. Coelho PMZ, Mayrink W, Dias M *et al.* Susceptibility to *Leishmania mexicana* of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1980; 74: 141.
62. Dolabella SS, Coelho PMZ, Borçari IT *et al.* Morbidity due to *Schistosoma mansoni*-*Entamoeba histolytica* coinfection in hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2007; 40:170-174.
63. Muok EMO, Mwinzi PNM, Black CL *et al.* Short Report: Childhood coinfections with *Plasmodium falciparum* and *Schistosoma mansoni* result in lower percentages of activated T cells and T regulatory memory cells than schistosomiasis only. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2009; 80: 475-478.
64. Pereira ALF. As tendências pedagógicas e a prática educativa nas ciências da saúde. *Caderno de Saúde Pública* 2003; 19: 1527-1534.
65. Tzanetou K, Tsiodra P, Delis V *et al.* Coinfection of *Schistosoma mansoni* and *Strongyloides stercoralis* in a patient with variceal bleeding. *Infection* 2005; 33: 292-4.
66. Alves MM, Amanajás AM, Silva RR *et al.* Novo caso de equinococose policística por *Echinococcus vogeli* (rausch & bernstein, 1972): implicação evolutiva no diagnóstico. *In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia*, 2005.
67. Macfie J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. *British Medical Bulletin* 2004; 71: 1-11.
68. Gencay C, Kilicoglu SS, Kismet K *et al.* Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. *World Journal of Gastroenterology* 2008; 14: 3410-3415.
69. Zanoni FL, Benabou S, Greco KV *et al.* Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. *Clinics* 2009; 64: 911-919.
70. Wiest R, Rath HC. Bacterial translocation in the gut. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 2003; 17: 397-425.
71. Janeway CA, Travers P, Walport M *et al.* *Imunobiologia, o sistema imune na saúde e na doença*. 5ª ed. ARTMED, Porto Alegre; 2002.
72. Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *The American Journal of Surgery* 2003; 186: 301-305.
73. Berg RD. Bacterial translocation from the digestório tract. *Trends in Microbiology* 1995; 3: 149-54.

74. Escobar ML, Kawakami E. Evidence of mother-child transmission of *Helicobacter pylori* infection. *Arquivos de Gastroenterologia* 2004; 1: 239-44.
75. Miranda MAC, Domingues ALC, Dias HS *et al.* Hypertensive portal colopathy in schistosomiasis mansoni: proposal for a classification. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2004; 99: 67-71.
76. Amaral RS, Tauil PL, Lima DD *et al.* An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006; 101:79-85.
77. Hornick RB. Selective primary health care. Strategies for control of disease in developing world. XX. Typhoid fever. *Review of Infectious Diseases* 1985; 7: 536-546.
78. Neves J, Martins NRLL. Long duration of septicaemic salmonellosis: 35 cases with 12 implicated species of *Salmonella*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1967; 61: 541-552.
79. Rocha H, Kirk JW, Hearey CD. Prolonged *Salmonella* bacteremia in patients with *Schistosoma mansoni* infection. *Archives of Internal Medicine* 1971; 128: 254-257.
80. Higashi GI, Farid Z, Bassily S *et al.* Nephrotic syndrome in schistosomiasis mansoni complicates by chronic salmonellosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1975; 24: 713-714.
81. Ferreira JM, Bassoi ON, Shiroma M. Salmonelose de curso prolongado associada à esquistossomose mansônica hepatoesplênica. Análise de 7 casos. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo* 1976; 31: 144-150.
82. Strausbaugh LJ, Farid Z, Higashi GI *et al.* Renal amyloidosis with nephrotic syndrome in two patients with schistosomiasis mansoni and chronic salmonellosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1978; 27: 919-23.
83. Lambertucci JR, Godoy P, Neves J *et al.* Glomerulonephritis in *Salmonella*-*S. mansoni* association. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1988; 38: 97-102.
84. Hennequin C, Bourée P, Halfon P. *Salmonella paratyphi* A urinary infection in *Schistosoma mansoni* bilharziasis. *Revue de Médecine Interne* 1991; 12: 141-2.
85. Teixeira R, Ferreira MD, Coelho PMZ *et al.* Pyogenic liver abscesses and acute schistosomiasis mansoni: report on 3 cases and experimental study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1996; 90: 280-283.
86. Sánchez-Olmedo JI, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J *et al.* *Schistosoma mansoni* and *Staphylococcus aureus* bacteremia: a deadly association. *Journal of Intensive Care Medicine* 2003; 29: 1204.
87. Elshal MF, Elsayed IH, El Kady IM *et al.* Role of concurrent *S. mansoni* infection in *H. pylori*-associated gastritis: a flow cytometric DNA-analysis and oxyradicals correlations. *Clinica Chimica Acta* 2004; 346: 191-8.
88. Rodrigues VL, Otoni A, Voietta I *et al.* Glomerulonephritis in schistosomiasis mansoni: a time to reappraise. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2010; 43: 638-642.

6.2 SEGUNDO ARTIGO

ARTIGOS ORIGINAIS



TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA NA ESQUISTOSSOMOSE CRÔNICA É INFLUENCIADA PELO SEXO DOS CAMUNDONGOS, PESO, MICROBIOTA INTESTINAL E ALTERAÇÕES DA MUCOSA DUODENAL

Bacterial translocation in experimental schistosomiasis is influenced by mice gender, weight, intestinal microbiota and duodenal mucosa alterations.

Kedma de Magalhães Lima¹, André de Lima Aires², Leandro Ricardo Rodrigues de Lucena³, Thays Miranda Almeida⁴, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque⁵ & Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁶.

¹DOUTORA. Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Helena de Lemos, nº 273, Ilha do Retiro, CEP: 50750-630, Recife, PE, Brasil. kedma.biom@gmail.com

²DOUTORANDO. Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Cidade Universitária, CEP: 50670-901 - Recife, PE, Brasil. andrelima26@gmail.com

³MESTRANDO. Pós-graduação em Biometria e Estatística aplicada. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. leandroricardo_est@yahoo.com.br

⁴MESTRANDA. Pós-graduação em Inovações Terapêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. thaysmalmeida@hotmail.com

⁵PROFESSORA DOUTORA. Pós-graduação em Medicina Tropical, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Pernambuco. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. jcmonica@nlink.com.br

⁶PROFESSORA DOUTORA. Pós-graduação em Medicina Tropical e Nutrição, responsável pelo setor de Microbiologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami, LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. ccastro@lika.upfe.br

RESUMO

Introdução: Esquistossomóticos apresentam alteração da mucosa intestinal e baixa resposta imune celular na fase crônica. Sexo pode influenciar a resposta inflamatória contra *Schistosoma mansoni*. Objetivamos investigar associação entre infecções secundárias e esquistossomose através do estudo da translocação bacteriana nesta fase. **Métodos:** Camundongos Swiss webster (*Mus musculus*) com 35 dias foram divididos em dois grupos: controles (10machos/10fêmeas) e esquistossomóticos (10machos/10fêmeas), infectados com 50 cercárias via percutânea. Amostras de fezes foram examinadas pelo método de Kato-Katz com 45 e 97 dias da infecção. Realizou-se perfusão hepática para quantificação de vermes. Os animais foram pesados após 35, 80, 125 e 132 dias de nascidos, quando foram eutanasiados para estudo da translocação, microbiota e morfometria intestinal. Para microbiota, fezes foram coletadas da região média do intestino delgado. Segmentos desta região foram seccionadas para diagnóstico morfométrico e histopatológico. **Resultados:** Fêmeas esquistossomóticas apresentaram maior quantidade de vermes adultos recuperados e número de ovos em fezes ($p=0,0001$). Ambos sexos apresentaram maior quantidade de ovos no 45º dia da infecção ($p=0,005$), diminuição da evolução ponderal com 80, 125 e 132 dias de nascidos ($p=0,0001$) e aumento do peso esplênico na eutanásia ($p=0,0001$). Os esquistossomóticos apresentam maior prevalência de coproculturas positivas, tanto em relação a densidade bacteriana por espécies, quanto ao número de UFC. A análise morfométrica duodenal revelou redução significativa na altura e área das vilosidades e do perímetro da superfície da mucosa de ambos os grupos infectados com *S. mansoni* ($p=0,0001$). Ocorreu maior translocação bacteriana nos grupos esquistossomóticos quando comparados aos respectivos controles, sendo maior prevalente nas fêmeas. **Conclusões:** Esquistossomose crônica modifica o peso ponderal e esplênico, mucosa e microbiota duodenal de camundongos e favorece translocação, migração e sepse, principalmente em fêmeas, podendo estar relacionada a intensidade do parasitismo.

PALAVRAS-CHAVES: Esquistossomose, translocação bacteriana, sexo, microbiota intestinal, linfonodos mesentéricos.

ABSTRACT

Introduction: Schistosomiasis have alterations of the intestinal mucosa and low cellular immune response in chronic phase. Gender may influence the inflammatory response against *Schistosoma mansoni*. We investigate the association between secondary infections and schistosomiasis through the study of bacterial translocation in this phase. **Methods:** Swiss Webster mice (*Mus musculus*) with 35 days were divided into two groups: control (10males/10females) and schistosomiasis (10males/10females), infected with 50 cercariae percutaneously. Stools were examined by the Kato-Katz method with 45 and 97 days of infection. Held quantification of liver perfusion worms. The animals were weighed after 35, 80, 125 and 132 days old when they were euthanized for study of translocation, microbiota and morphology intestinal. For microbiota, feces were collected from the middle of the small intestine. Segments of this region were sectioned for morphometric and histopathological diagnosis. **Results:** Females had higher schistosomotic number of adult worms recovered and number of eggs in faeces ($p = 0.0001$). Both genders had a higheter number of eggs on the 45th day of infection ($p=0.005$), decreased weight gain with 80, 125 and 132 days old ($p=0.0001$) and increased

spleen weight at euthanasia ($p=0.0001$). The higher prevalence of schistosomiasis have positive stool cultures, both in relation to bacterial density by species, on the number of CFU. The morphometric analysis revealed significant reduction in duodenal height and villus area and perimeter of the mucosal surface of both groups infected with *S. mansoni* ($p=0.0001$). Bacterial translocation was higher in groups with schistosomiasis when compared to respective controls, with higher prevalence in females. **Conclusions:** In mice, chronic schistosomiasis alters the weight and spleen weight, duodenal mucosa and microbiota and favours translocation, migration and sepsis, especially in females, probably due to the intensity of parasitism.

KEY-WORDS: Schistosomiasis, bacterial translocation, gender, intestinal microbiota, mesenteric lymph nodes.

INTRODUÇÃO

Translocação é a passagem de micro-organismos viáveis ou endotoxinas através da mucosa e lamina própria do trato digestório para os linfonodos mesentéricos e outros órgãos¹. Esse fenômeno tem sido associado à candidemias, bacteremias e a síndrome da falência de múltiplos órgãos e sistemas²⁻⁵. Os mecanismos que controlam a translocação dependem de múltiplos fatores relacionados ao micro-organismo e ao hospedeiro. Acredita-se que, para ocorrer à passagem de bactérias e endotoxinas da luz intestinal para corrente sanguínea, haja necessidade da existência isolada ou conjunto da queda da imunidade do paciente, alteração da microbiota e quebra da barreira defensiva da mucosa intestinal⁵⁻⁶.

Pacientes infectados com *Schistosoma mansoni* podem apresentar circulação mesentérica prejudicada por ação traumática, irritativa e espoliativa dos parasitos adultos que se alimentam de sangue e obstruem os vasos. A ação traumática dos vasos mesentéricos deve-se também aos ovos espiculados que precisam atravessar a mucosa intestinal para serem expelidos nas fezes. Entretanto, parte destes ovos fica retido na mucosa resultando em reação inflamatória granulomatosa crônica⁷. Em 2005, FERRAZ et al., evidenciaram prevalência de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos de pacientes com esquistossomose mansônica crônica; e concluíram que a presença bacteriana poderia ser consequência da translocação e favorecer o desenvolvimento de complicações infecciosas pós-operatória⁸. Em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* foi demonstrado a secreção de citocinas Th1 pelas células hepáticas antes da postura dos ovos, com aumento da Th2 devido à presença de antígenos dos ovos, com decréscimo na secreção de IFN- γ e IL-2, coincidindo com elevação de IL-4 e IL-5;

processo que parece promover imunodepressão na fase crônica da doença⁹⁻¹¹. Este fenômeno poderia facilitar a translocação e permitir sepse.

Além disso, sabe-se que em algumas infecções parasitárias, o sistema endócrino pode modular a resposta imunológica do hospedeiro vertebrado mostrando existir diferenças em relação ao sexo; como também, o sistema endócrino pode ser explorado pelo parasito, para manter sua sobrevivência¹².

Diante destes fatores e frente ao grande número de pacientes esquistossomóticos na fase crônica; bem como existência de inúmeras evidências sobre associação com infecções bacterianas, torna-se clara a necessidade de estudos sobre alterações provocadas pelo *Schistosoma mansoni* no hospedeiro vertebrado. Faz-se indispensável à compreensão a respeito das causas das coinfeções, considerando translocação bacteriana e influência da doença crônica na susceptibilidade as infecções secundárias por componentes da microbiota intestinal, tanto em esquistossomóticos machos, quanto fêmeas. Desta forma, objetivamos investigar a influência da infecção pelo *S. mansoni* na translocação bacteriana e avaliar se o sexo e o peso dos camundongos, bem como a microbiota intestinal e a mucosa duodenal encontram-se alterados na fase crônica da doença.

MÉTODOS

Animais e formação dos grupos experimentais

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, foi realizado estudo experimental de intervenção utilizado camundongos Swiss webster (*Mus musculus*) com 35 dias de nascidos obtidos e mantidos no biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA/UFPE. Os camundongos foram divididos em dois grupos: Esquistossomóticos (E) e Controle (C). Cada grupo foi formado por dois subgrupos com 10 camundongos machos (M) e 10 camundongos fêmeas (F).

A infecção foi realizada via percutânea com 50 cercárias de *S. mansoni* (linhagem – São Lourenço da Mata) mantida pelo Laboratório de Imunologia e Esquistossomose Experimental – LIKA/UFPE, através da passagem sucessiva em caramujos *Biomphalaria glabrata*.

Para o presente estudo foi estabelecido que o tempo de experimento fosse após 14 semanas da infecção. Uma vez que a fase crônica da doença esquistossomótica murina é estabelecida a partir da 12ª semana do contato com as cercárias^{15,16}.

Avaliação da evolução ponderal e parasitológica

Os animais foram pesados individualmente com 35 dias de nascidos (início dos experimentos), 80 dias (após Kato-Katz), 125 e 132 dias (antes da eutanásia).

Com 45 dias da exposição cercariana, os animais foram avaliados individualmente pelo método Kato-Katz¹³, para confirmar a infecção e quantificar o número de ovos eliminados junto as fezes. Ao 97º dia da infecção, o mesmo método foi realizado. Após a retirada das amostras biológicas para estudo da translocação, os vermes foram recuperados através da técnica de perfusão do sistema venoso porta e veias mesentéricas de acordo com a técnica de YOLLES et al. (1947)¹⁴. Ao final da perfusão foi realizada contagem e classificação do sexo dos vermes adultos.

Peso esplênico

Os baços dos animais eutanasiados foram pesados e os resultados foram expressos em gramas (g).

Avaliação da translocação bacteriana em amostras teciduais

Os camundongos foram submetidos a eutanásia por *overdose* de anestésico. Foi realizada tricotomia da região peritoneal, seguindo-se de antissepsia com iodopovidona no peritônio e cauda do camundongo para evitar contaminação das amostras e/ou tubo com a microbiota residente e transitória externa.

Coletou-se sangue periférico (0,5mL) em tubos de ensaio estéreis após punção caudal. Em seguida, realizou-se incisão mediana xifo pubiana para coleta de sangue porta (0,5mL) utilizando agulha 13x4,5 acoplada à seringa descartável de 1mL. Posteriormente, fragmentos de aproximadamente 0,03g ($\pm 0,01$ g) de linfonodos mesentéricos, baço e fígado foram coletados, macerados e homogeneizados individualmente em placas de Petri estéreis.

Todas as amostras foram acrescidas de BHI (Infusão de cérebro e coração - 1:5) e incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24horas. Depois, semeadas em placas de Petri contendo meios de cultivo específicos para cada grupo bacteriano, gram-positivos e gram-negativos. A leitura das placas foi realizada após 24-72 horas de incubação (37°C). Com o crescimento nas placas de cultura, as espécies bacterianas foram identificadas por testes bioquímicos convencionais e confirmadas em equipamento automatizado (VITEK 2 System® BioMerieux, Durham, NC).

Avaliação da microbiota intestinal

Amostra de material entérico foi coletada diretamente da região média do intestino delgado de cada animal.

Para a determinação do número de unidades de colônias por grama de fezes (UFC/g) utilizou-se método adotado por BISSO (2008)¹⁷. Nos tubos contendo amostras fecais foi acrescentado solução salina estéril/NaCl 0,9% (1:10). Após homogeneização mecânica, obteve-se diluição inicial 10^{-1} , seguida de diluições seriadas, até diluição de 10^{-6} . A partir das cinco diluições preparadas, foram inoculados 0,1 ml de cada na superfície de placas contendo meios cromogênicos (Agar CPS ID®, BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Espalhou-se o inóculo com auxílio da alça de Drigalsky. As placas foram incubadas invertidas a 37°C durante 24-48 horas. As bactérias foram identificadas de acordo com a morfologia colonial, microscópica e características bioquímicas¹⁸. O cálculo do UFC foi dado pelo número de colônias detectado no meio de cultura x fator decimal de diluição das fezes x 10 (fator para expressar o resultado por grama de fezes, visto que o volume semeado em cada meio foi 0,1mL).

Análise morfométrica da mucosa duodenal

Fragmentos da porção média do intestino delgado de cada animal foram coletados em cortes sagitais, fixados em formaldeído a 10% tamponado em PBS (tampão fosfato tamponado a pH 7,2) e processados para inclusão em parafina. Posteriormente, realizado cortes histológicos de 5µm de espessura e corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina. As variáveis consideradas no estudo morfométrico foram medidas da altura e área das vilosidades, bem como superfície total de área da mucosa (perímetro). Para esta análise, examinador cego aos grupos, capturou imagens em cinco campos aleatórios (área total de campo = 12.234 µm², área total visualizada = 61.170µm²) das amostras histológicas de cada animal e analisou as mesmas com auxílio do software *Image J*. Os valores obtidos foram expressos em pixel (unidade de resolução de imagem).

Apresentação e análise dos dados

As variáveis quantitativas foram expressas por média e desvio padrão, já as variáveis qualitativas em frequências absolutas e relativas. Para comparação entre os pesos utilizou-se teste de Friedman. Teste de Wilcoxon foi realizado para comparar número de ovos. Também se utilizou teste de Mann-Witney para comparar número de ovos, a recuperação

de vermes machos e fêmeas, altura e área das vilosidades, bem como área total. Sendo estipulado o nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Análise parasitológica

Nos esquistossomóticos, a média de vermes adultos recuperados dos camundongos fêmeas foi maior quando comparados aos machos ($p = 0,0001$), sendo a quantidade de vermes machos maior que a quantidade de vermes fêmeas ($p = 0,0001$). Em ambos sexos, o número de ovos por g/fezes foi maior no 45º dia que no 97º dia da infecção ($p = 0,005$). Entretanto, nas duas amostras coletadas, as fêmeas eliminaram aproximadamente 3,5 vezes mais ovos por grama de fezes (g/fezes) que os machos ($p = 0,0001$, para ambas) (Tabela 1).

TABELA 1 - Número médio de vermes recuperados e de ovos eliminados por g/fezes em camundongos infectados por *S. mansoni* de acordo com o sexo.

Subgrupos esquistossomóticos	Média de vermes adultos recuperados			Média de ovos por g/fezes	
	Machos	Fêmeas	Total	45º dia de infecção	97º dia de infecção
Machos (n=10)	5,0±0,7	3,7±0,5	8,7±0,8	57,5±3,0	39,1±3,6
Fêmeas (n=10)	10,8±1,6	8,0±0,9	18,8±1,5	192,3±5,5	149,0±8,2

Nota: valores expressos em média ± desvio padrão.

Análise da evolução ponderal e peso esplênico

O peso corpóreo dos camundongos no início dos experimentos (35 dias) foi semelhante entre controles e esquistossomóticos, de ambos os sexos ($p > 0,05$).

Na análise da evolução do peso corpóreo dos camundongos com 80, 125 e 132 dias de nascidos, houve diminuição da evolução ponderal das fêmeas parasitadas quando comparadas com as controles ($p = 0,0001$). O mesmo ocorreu com os machos esquistossomóticos quando comparado aos controles ($p = 0,0001$) (Gráfico 1).

Os animais parasitados, ao 132º dia, apresentavam-se apáticos e com discreta alteração na cor da pelagem.

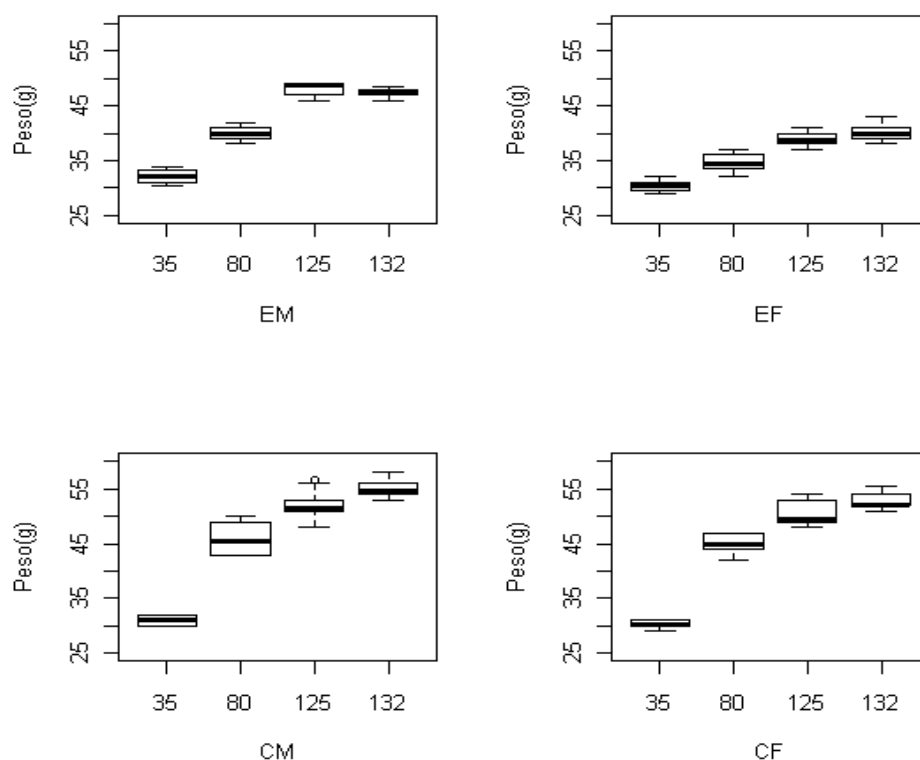


GRÁFICO 1 – Evolução do peso ponderal dos camundongos com 35, 80, 125 e 132 dias de nascidos. **EM**: machos esquistossomóticos; **EF**: fêmeas esquistossomóticas; **CM**: machos controles; **CF**: fêmeas controles.

De acordo com o gráfico 2, os camundongos esquistossomóticos de ambos sexos apresentaram maior peso esplênico que os seus respectivos controles ($p=0,0001$). Entretanto, entre machos e fêmeas infectados não houve diferença nas médias dos pesos esplênicos ($p=0,427$).

Estudo da microbiota entérica

A tabela 2 demonstra a análise qualitativa e quantitativa das amostras entéricas quanto à presença de bactérias nos grupos parasitados e controle.

Observamos aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos subgrupos machos e fêmeas, de ambos grupos controle e esquistossomóticos. Entretanto, camundongos parasitados apresentaram maior prevalência de coproculturas positivas, tanto com relação à densidade bacteriana por espécies quanto ao número de

UFC. Na tabela 2, para melhor compreensão das diferenças entre grupos esquistossomótico e controle, unimos os resultados dos subgrupos machos e fêmeas.

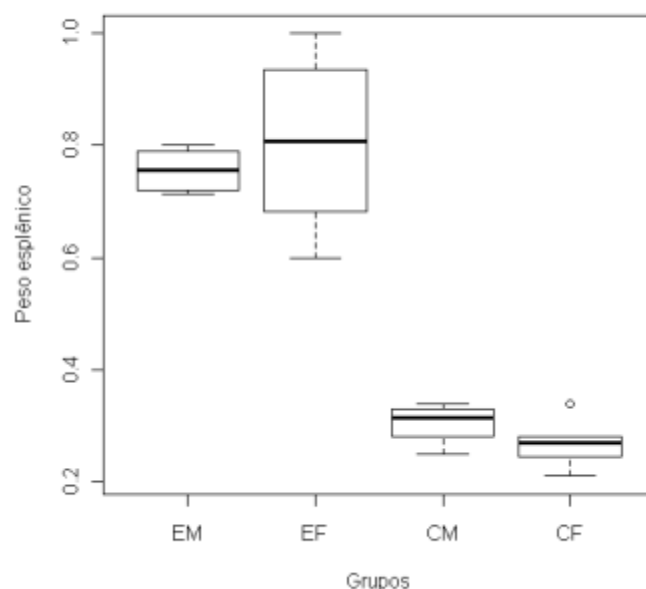


GRÁFICO 2 - Peso esplênico dos camundongos após eutanásia (132 dias de nascidos). **EM**: machos esquistossomóticos; **EF**: fêmeas esquistossomóticas; **CM**: machos controles; **CF**: fêmeas controles.

TABELA 2 - Distribuição da frequência de bactérias por UFC ($\log_{10}/g$ de fezes) isoladas de amostras entéricas de camundongos esquistossomóticos e controle.

Isolados bacterianos	Grupos experimentais					
	Esquistossomóticos			Controle		
	n	%	UFC ($\log_{10}$)/g	n	%	UFC ($\log_{10}$)/g
<i>Proteus mirabilis</i>	9	50	10^6	5	25	10^4
<i>Staphylococcus coag neg</i>	4	20	10^4	2	10	10^3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	30	10^7	4	20	10^4
<i>Enterococcus faecalis</i>	18	90	10^9	18	90	10^7
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	60	10^7	6	30	10^4
<i>Escherichia coli</i>	10	50	10^9	4	20	10^5

Nota: Os resultados da contagem foram expressos em logaritmo decimal do número de unidades formadoras de colônias por grama de fezes.

Análise histomorfométrica do duodeno

Em camundongos esquistossomóticos, o aspecto macroscópico do intestino foi indicativo de quadro de hipertrofia, fibrose nas alças intestinais e aumento no calibre e de intensa rigidez tecidual, sem diferença entre os sexos. Da mesma forma, com relação aos achados histopatológicos do duodeno, estes animais também não exibiram diferenças em relação ao sexo. Além disso, na histopatologia da lâmina própria e submucosa, foram visualizados granulomas esquistossomóticos, predominantemente do tipo produtivos com evolução para cicatrização fibrótica. Os granulomas estavam distribuídos isoladamente ou em coalescência, compostos por macrófagos e linfócitos dispostos em proximidade ao ovo ou vestígio de ovo central, além de escassos eosinófilos, resultando em deslocamento das vilosidades no espaço intraluminal. Estes achados histopatológicos foram escolhidos como critério de exclusão nas análises morfométricas, pois poderiam resultar em aumento aparente da altura e área das vilosidades (Figura 2). Aspectos dentro dos padrões de normalidades anatômicas e histológicas foram visualizados no grupo controle em ambos os sexos.

A análise morfométrica duodenal revelou redução significativa na altura e área das vilosidades, bem como perímetro da superfície da mucosa (área total) de ambos grupos esquistossomóticos quando comparados aos controles ($p=0,0001$). A mesma análise morfométrica intragrupo (machos e fêmeas) esquistossomóticos ($p>0,05$, $0,05$ e $0,05$, respectivamente) (Tabela 3).

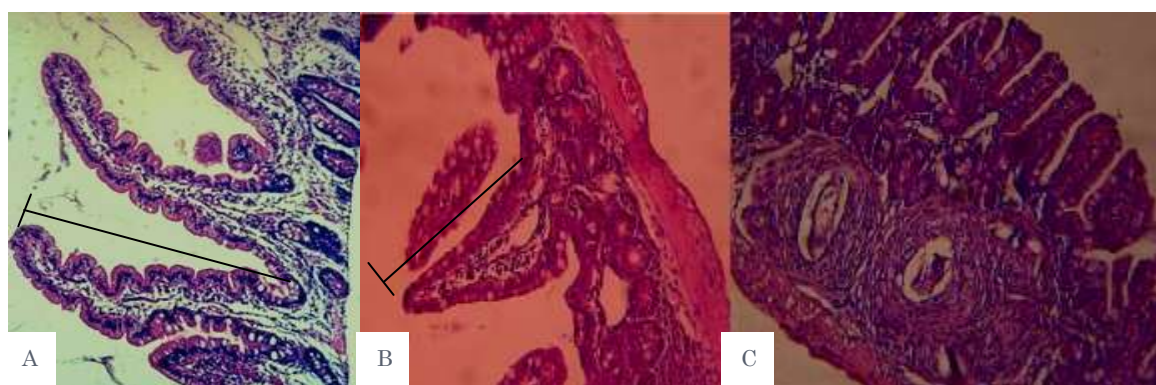


FIGURA 1 - Laminas histopatológicas da região média do intestino delgado de camundongos esquistossomóticos coradas com Hematoxilina-Eosina. **A.** Vilosidade normal. (Ampliação x400). **B.** Hipotrofia da vilosidade (Ampliação x400). **C.** Granulomas na lamina própria compostos principalmente por neutrófilos e linfócitos (Ampliação x200).

TABELA 3 - Comparação da morfometria da mucosa duodenal entre os grupos esquistossomóticos e controle.

Grupos experimentais	Parâmetros morfométricos		
	Altura da vilosidade	Área da vilosidade	Área total
<u>Esquistossomóticos</u>			
Subgrupos			
Machos (n=10)	101,98±8,2	2,60±0,3	301,997±183,0
Fêmeas (n=10)	98,83±9,15	2,49±0,28	298,812±133,43
<u>Controle</u>			
Subgrupos			
Machos (n=10)	119,48±10,2	3,74±0,64	542,119±194,01
Fêmeas (n=10)	117,43±13,09	3,34±0,7	539,879±226,67
p	0,0001	0,0001	0,0001

Nota: valores expressos em média das medidas em pixels ± desvio padrão.

Estudo da translocação bacteriana

Houve translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos nos dois grupos experimentais, sendo mais prevalente em esquistossomóticos. Com relação à translocação para sangue porta, fígado, baço e sangue periférico, apenas animais parasitados apresentaram bactérias teciduais, sendo mais assinalado nas fêmeas (Tabela 4).

No grupo controle observou-se micro-organismos em fragmentos dos linfonodos mesentéricos em três casos (duas fêmeas e um macho). Foram isoladas bactérias gram-negativas, *E. coli*, em todas as amostras.

Em fêmeas esquistossomóticas, as culturas de linfonodos mesentéricos apresentaram positividade bacteriana em todas as amostras (*S. aureus* em 6 camundongos, *S. aureus* associado à *Enterococcus faecalis* em 1, *E. coli* em 2 e *E. faecalis* em 1); em sangue porta foram isolados bactérias em 60% destes animais (*S. aureus* em 4 amostras e *E. coli* em 2). Em fragmentos do fígado e baço, 50% das fêmeas esquistossomóticas apresentaram *S. aureus* (100%). Esta mesma bactéria foi isolada em 30% das amostras de sangue periférico.

Em machos esquistossomóticos, cultura de fragmentos dos linfonodos mesentéricos apresentaram positividade em 70% dos animais (*S. aureus* em 4 e *E. coli* em 3); em sangue porta foram isolados bactérias em 30% destes animais, em todos os casos, *E. coli*. Esta mesma bactéria foi isolada em 20% das culturas dos fragmentos de fígado e baço destes animais. Não observamos bactérias nas amostras de sangue periférico dos machos esquistossomóticos.

Para todas as amostras, não houve crescimento bacteriano nos meios específicos para micro-organismos anaeróbios e fungos.

TABELA 4 - Incidência e locais da translocação bacteriana de grupos esquistossomóticos e controle, machos e fêmeas.

Grupos experimentais	Trasnlocacao bacteriana de acordo com as amostras teciduais										Translocação bacteriana total	
	Linfonodos mesentéricos		Sangue porta		Fígado		Baço		Sangue periférico		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
<u>Esquistossomóticos</u>												
Subgrupos												
Machos (n=10)	7	70	3	30	2	20	2	20	-	-	7	70
Fêmeas (n=10)	10	100	6	60	5	50	5	50	3	30	10	100
<u>Controle</u>												
Subgrupos												
Machos (n=10)	1	10	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10
Fêmeas (n=10)	2	20	-	-	-	-	-	-	-	-	2	20

DISCUSSÃO

O camundongo, embora apresente infecção por *Schistosoma mansoni* mais grave do que as habitualmente observadas em seres humanos, é considerado bom modelo experimental para esta helmintose¹⁹. A linhagem de camundongos Swiss apresenta respostas fisiológicas e anatomopatológicas semelhantes aos humanos. Além disso, oferece variabilidade genética (não isogênicos), o que facilita extrapolar os resultados²⁰.

Entre crianças e adultos, a intensidade e prevalência das infecções causadas por *Schistosoma* em áreas endêmicas são maiores no sexo masculino²¹⁻²³. Apesar dos machos serem mais susceptíveis a muitos parasitas, na presente análise, os machos, infectados com a mesma carga parasitária das fêmeas, apresentaram menor grau de parasitismo. Da mesma forma, Nakasawa et al. (1997)²⁴ concluíram que os camundongos machos *Mus musculus* são menos susceptíveis a infecção por *S. mansoni*.

Embora a penetração percutânea das cercárias em camundongos seja altamente eficiente, na melhor das hipóteses, apenas 35 a 40% delas são recuperadas posteriormente como vermes adultos²⁵. A origem da desproporção entre os vermes adultos machos e fêmeas tem sido estudada desde a década de 40 e, ao que parece, cada sexo apresenta distinta estratégia de transmissão²⁶⁻²⁸. As cercárias machos possuem maior infectividade, enquanto que as fêmeas exibem maior longevidade em condições experimentais²⁹. Admite-se que, em situação de equilíbrio, haja interação entre os sexos e a presença do macho poderia estimular a infectividade das fêmeas³⁰.

Neste estudo, observou-se maior quantidade de vermes machos em relação ao número de vermes obtidos. Esses dados são discordantes de Martinez et al. (2003)³¹, que observaram proporção semelhante entre vermes machos e fêmeas recuperados após infecção pelas diferentes cepas brasileiras. No entanto, Boissier et al. (2001)³⁰ relataram que em hospedeiros permissivos, distintos genótipos do parasito poderiam se desenvolver induzindo acentuada competição entre fêmeas e como consequência, aumento na quantidade de machos.

Nas fêmeas, devido à maior quantidade de vermes adultos, observamos também maior número de ovos em laminas realizadas com 45 e 97 dias da infecção, ocorrendo diminuição na última contagem. Segundo Martinez et al. (2003)³¹, o padrão de eliminação dos ovos se inicia com baixa oviposição, havendo aumento progressivo entre 45 e 72 dias. Estudos *in vitro* evidenciaram que oviposição é caracterizada por três etapas: fase inicial, em que fêmeas produzem poucos ovos; período de máxima oviposição e, finalmente, redução progressiva no número de ovos eliminados, cerca de três semanas após período pré-patente^{32,33}.

Existem trabalhos que estudam experimentalmente associação da esquistossomose e desnutrição, a última induzida com dieta hipoprotéica^{34,35}. Entretanto, são escassos os resultados sobre redução da evolução do peso ponderal como consequência da esquistossomose, sobretudo em relação à diferença entre os sexos. O peso corporal dos camundongos constitui parâmetro importante na esquistossomose, visto que a doença grave favorece a redução do peso e baixa estatura³⁶. Segundo Carvalho et al. (2008)³⁷, em qualquer relação hospedeiro/parasito, o parasitismo, para assegurar seu desenvolvimento e sobrevivência, em alguma fase retirará sua energia e nutrientes, direta ou indiretamente, do alimento, metabólitos e tecido do hospedeiro. Ainda segundo estes autores, infecção pelo *S. mansoni* se relaciona com várias formas de má-nutrição, embora ainda não esteja completamente esclarecido com que intensidade ela agrava ou provoca estado de má-nutrição no homem. Nos resultados do presente estudo e de acordo com as doenças crônicas, camundongos esquistossomóticos apresentaram redução da evolução do peso quando comparados ao controle, concordando com outras pesquisas envolvendo esquistossomose experimental^{34,38}. A esquistossomose reduziu a massa corporal em machos e fêmeas, sem diferenças significativas entre os sexos.

Na fase crônica, o aumento do baço tem como origem a congestão passiva decorrente da hipertensão portal³⁹. O peso do baço nos camundongos infectados foi significativamente diferente quando comparada com controles, entretanto, não observamos

diferença em relação ao sexo, mesmo as fêmeas estando mais parasitadas. O peso deste órgão nos animais infectados apresenta tendência a aumentar com evolução da doença, entre 90% a 100% dos casos^{34,40}. O baço é parte importante do sistema imunológico, onde linfócitos e macrófagos ali presentes têm a oportunidade de entrar em contato com antígenos estranhos e micro-organismos que eventualmente ganhem acesso à corrente sanguínea⁴¹.

Na fase crônica da doença ocorre predomínio da resposta imunológica do perfil Th2, que se sobressai à resposta Th1, que poderia provocar imunodeficiência relativa⁴². A IFN- γ estimula destruição intracelular de micro-organismos pelas células fagocíticas, assim, resposta Th1 constitui resposta normal às infecções bacterianas, fúngicas e virais conferindo resistência⁴¹. Ao contrário, resposta Th2 associa-se com hipersensibilidade, pois IL-4 estimula produção de IgE pelas células B e IL-5, proliferação de eosinófilos¹⁶. Desta forma, o comprometimento das defesas do organismo aumenta a susceptibilidade às infecções e determina evoluções mais rápidas e severas a quadros infecciosos que venham a se instalar.

A modulação do sistema imune é uma das funções da microbiota intestinal, que têm considerável importância na resistência à colonização e, também, participa da nutrição do hospedeiro⁴⁶. O trato digestório dos mamíferos abriga comunidade microbiana que é extremamente densa e diversa. Cada grama de fezes contém, aproximadamente, 10^{11} micro-organismos, sendo que, os processos de aquisição e estabelecimento da microbiota são complexos, envolvendo sucessão de populações microbianas dentro de regiões específicas do intestino, além de interações micro-organismo/hospedeiro⁴³⁻⁴⁵. A microbiota residente de certas áreas desempenha papel bem definido na manutenção da saúde⁴⁷. A resistência à colonização pode ser definida como a “ação limitante” da microbiota normal na colonização do intestino por micro-organismos potencialmente patogênicos exógenos e indígenas, tais como *Escherichia coli*, *Enterococcus*, e leveduras^{44,48}. Estudos mostram que bactéria intestinal pode causar doença sistêmica em indivíduos imunocomprometidos, sem outras condições associadas. Isto leva a crer que disfunção imune promove primariamente alterações na microbiota intestinal e translocação de bactérias^{1,3,49}.

O intestino delgado mediano, de homens e animais, contém elevadas contagens de micro-organismos anaeróbios facultativos e baixas contagens de anaeróbios estritos⁵⁰. O cólon possui características de permeabilidade diferentes do intestino delgado, apresenta maior resistência elétrica e menor permeabilidade ao movimento passivo de íons. Estas

características explicariam a maior susceptibilidade do intestino delgado à translocação bacteriana¹.

Nos nossos resultados, a esquistossomose crônica modificou a microbiota dos camundongos. O grupo esquistossomótico, independente do sexo, apresentou maior variedade e quantidade de colônias bacterianas nas coproculturas quando comparados ao controle. O que poderia ser explicado, em parte, por ineficiente funcionamento imunológico do trato digestório, em virtude da imunomodulação, hipotrofia das vilosidades ou estado nutricional. Entretanto, sabe-se que o rompimento do equilíbrio da microbiota indígena contribui para excessivo crescimento de determinadas bactérias, tornando fator para processo de translocação^{51,52}. Além disso, na presente investigação, observamos hipotrofia das vilosidades nos animais esquistossomóticos, de forma igual para ambos sexos. É sabido que a forma hepatoesplênica da esquistossomose é caracterizada por fibrose hepática e hipertensão portal, que favorecem redução da altura das vilosidades intestinal^{38,53}. A hipotrofia das vilosidades, com mesma intensidade em ambos os sexos, pode explicar, de certa forma, redução da massa corporal em machos e fêmeas, também sem diferenças significativas entre os sexos.

Devido às alterações orgânicas provocadas pela esquistossomose no hospedeiro vertebrado, alguns autores sugerem presença da translocação bacteriana^{10,38}. Para BERG (1995)⁵⁴, a translocação ocorreria em três estágios; no primeiro estágio, bactéria transporia a mucosa intestinal, alcançando linfonodos mesentéricos; no segundo estágio, bactéria migraria dos linfonodos mesentéricos para outros órgãos como fígado, baço, pulmões e rins; e no terceiro e último estágio, bactéria se disseminaria pela cavidade peritoneal e sangue, provocando quadro septicêmico.

No presente trabalho, o estudo da translocação bacteriana foi realizado de acordo com a literatura⁵⁵⁻⁵⁷. Observamos translocação para os linfonodos mesentéricos nos esquistossomóticos e controle; e para sangue porta, fígado, baço e sangue periférico, apenas nos esquistossomóticos, principalmente fêmeas. A fisiologia da translocação depende do papel de barreira exercido pela mucosa intestinal, sendo auxiliada pelos componentes do sistema imune celular e humoral^{1,3}. Nos dados aqui expostos, a explicação para migração de bactérias para linfonodos mesentéricos, sangue porta, órgãos e finalmente, sangue periférico poderia ser devido alterações na permeabilidade da barreira da mucosa intestinal, microbiota intestinal e estado imunológico do hospedeiro. Já que, segundo a literatura, algumas destas alterações são comuns durante a fase crônica da doença^{11,38}.

A translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos em animais saudáveis foi observada por pesquisadores e tem sido considerada como parte de estimulação normal antigênica do tecido linfóide associado ao intestino, mesmo na ausência de injúria^{58,59}. Segundo Wiest & Rath (2003)¹, bactérias aeróbias gram-negativas podem translocar com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. Em humanos, esse fenômeno além de nódulos linfáticos, raramente tem sido observado. O principal impacto fisiológico da translocação bacteriana além dos nódulos linfáticos até o ducto torácico seria a passagem através do sistema reticuloendotelial do fígado, que atuaria como filtro de toxinas e bactérias. Alguns autores têm relatado translocação de toxina através do ducto torácico em pacientes com falência sistêmica de órgãos^{60,61}. É claro que as funções hepáticas na esquistossomose crônica estão debilitadas, e isso poderia explicar o porquê da disseminação das bactérias que translocam via trato digestório para outros órgãos e/ou corrente circulatória. A prevalência de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos de pacientes com esquistossomose hepatoesplênica pode desempenhar papel no desenvolvimento de complicações infecciosas pós-operatória. Tornando-se, assim, um dos motivos para o aumento da prevalência das infecções bacterianas em pacientes com esquistossomose submetidos a cirurgia⁸.

A capacidade de translocação é maior em linhagens específicas de bactérias, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, que possuem maior capacidade de aderência e fixação ao epitélio produtor de muco⁵⁵. Desta forma, o trato digestório funciona como reservatórios de disseminação de infecção potencial⁵⁵. No presente estudo, as bactérias que mais frequentemente translocaram foram *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

A maioria dos estudos experimentais tem demonstrado que esquistossomose associada à bacteremia por *Staphylococcus aureus*, como também *Escherichia coli*, favorece colonização do fígado pela bactéria, com posterior formação de abscesso piogênico, e hemoculturas nem sempre positivas⁶²⁻⁶⁷. No Egito, 6 pacientes com esquistossomose, apresentavam, também, febre prolongada, sendo que bacteremia por *Escherichia coli* foi encontrada em 5 casos, e em 1 caso foi observado infecção do trato urinário pela mesma bactéria⁶⁸. É provável que estas bactérias sejam originárias da microbiota intestinal dos hospedeiros, e tenham chegado ao fígado por translocação. Alguns autores concluíram que anaeróbios translocam em situações em que o intestino se encontra estruturalmente danificado e, por isso, causam menor índice de complicações sépticas^{69,70}. Estas bactérias formariam um tapete, revestindo a superfície mucosa,

impedindo colonização por micróbios potencialmente invasores^{49,71}. Apesar das bactérias anaeróbias existir em maior número em relação às bactérias aeróbias e facultativas, não observamos translocação por anaeróbios, o que poderiam ser explicado por um dano estrutural mais leve na esquistossomose que os observados pelos autores acima citados.

Embora os machos sejam mais susceptíveis que as fêmeas a muitos processos infecciosos, no presente estudo, ocorreu maior translocação bacteriana nas fêmeas esquistossomóticas, mesmo estas possuindo peso corporal, peso esplênico, alteração da microbiota e morfologia semelhantes aos machos. Esse fato pode ser determinado pelo maior grau de parasitismo observado nas fêmeas, pela questão hormonal ou pela resposta imunológica frente à doença crônica. Foram observados apenas três casos de sepse nas fêmeas esquistossomóticas. Alguns estudos demonstram que o aumento dos níveis de IgM e IgG na forma hepatoesplênica, pode ser, pelo menos parcialmente, responsável pela maior resistência à sepse em esquistossomóticos^{72,73}. Mesmo após a esplenectomia, os doentes não desenvolvem quadros sépticos graves no período pós-operatório, assim como não há registro de tais complicações, de forma significativa, durante a história de sua afecção⁷⁴.

Em conclusão, comprovamos que a esquistossomose favorece a alteração da microbiota intestinal e consequentemente, a incidência de translocação bacteriana. Este fato pode está relacionado as alterações orgânicas provocados pelo *S. mansoni* no hospedeiro vertebrado, como redução da evolução do peso corporal, esplenomegalia e alterações na barreira da mucosa intestinal. Entretanto, neste estudo, as fêmeas esquistossomóticas apresentaram maior suscetibilidade à sepse, o que poderia ser explicado pelo maior grau de parasitismo que influencia em maior alteração do estado imunológico do hospedeiro. Novos trabalhos, portanto, são necessários para tentar esclarecer esse ponto importante aqui levantado.

CONFLITO DE INTERESSES

Não há conflito de interesses

REFERENCIAS

1. Wiest R, Rath HC. Bacterial translocation in the gut. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2003; 17: 397-425.
2. Nucci M, Anaisse E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? Clin Infect Dis 2001; 33:1959-1967.

3. Macfie J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. *Br Med Bull* 2004; 71: 1-11.
4. Koh IHJ, Liberatore AMA, Menchaca-Diaz JL, Ruiz-Silva M, Vilela-Oliveira L, Watanabe AY et al. Bacterial translocation, microcirculation injury and sepsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2006; 6: 143-150.
5. Galeev Y, Lishmanov Y, Aparcin K, Popov M, Salato O. Bacterial scintigraphy at experimental intestinal obstruction. *J Nucl Med* 2009; 50: 1318.
6. Ypsilantis P, Panopoulou M, Lambropoulou M, Tsigalou C, Pitiakoudis M, Tentes I et al. Bacterial translocation in a rat model of large volume hepatic radiofrequency ablation. *J Surg Res* 2010; 161: 250-8.
7. Katz N, Almeida K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Cienc Cult* 2003; 55: 38-43.
8. Ferraz AAB, Campos JM, Araújo Júnior JGC, Albuquerque AC, Ferraz EM. Gut Bacterial Translocation and Postoperative Infections: A Prospective Study in Schistosomotic Patients. *Surg Infect* 2005; 6: 197-201.
9. Araújo FG, Coelho PMZ, Pereira LH, Pellegrino J. *Schistosoma mansoni*: impairment of the cellmediated immune response in mice. *Clin Exp Immunol* 1977; 28: 289-291.
10. Ferraz AAB, Santos Junior MA, Mathias CA, Magalhães M, Barcelar T, Ferraz EM. Modelo de Peritonite Experimental em Camundongos Esquistossomóticos. *Acta Cir Bras* 1993; 8: 28-31.
11. Elias D, Akuffo H, Thors C, Pawlowski A, Britton S. Low dose chronic *Schistosoma mansoni* infection increases susceptibility to *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 398-404.
12. Escobedo G, Roberts CW, Carrero JC, Morales-Montor J. Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? *Trends Parasitol* 2005; 21: 588-593.
13. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1972; 14: 397-400.
14. Yolles TK, Moore DV, De Giusti DL, Ripson CA, Meleney HE. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J Parasit* 1947; 33: 419-26.
15. Fallon PG. Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. *Immunol Today* 2000; 21: 29-35.
16. Pearce EJ, Macdonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 499-511.
17. Bisso LM. Modelo Murino de inflamação intestinal crônica: Avaliação quantitativa da dinâmica da microbiota intestinal (Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal Fluminense) Rio de Janeiro, 2008.
18. Koneman EW. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6rd ed. São Paulo: MEDSI; 2008.
19. Warren KS. The pathogenesis of "clay-pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schistosomes. *Am J Pathol* 1966; 49: 477-89.
20. Cheever AW, Lenzi JA, Lenzi HL, Andrade ZA. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 917-940.
21. Degu G, Mengistu G, Jones J. Some factors affecting prevalence of and immune responses to *Schistosoma mansoni* in schoolchildren in Gorgora, northwest Ethiopia. *Eth Med J* 2002; 4: 345-352.

22. Ferreira ILM, Silva TPT. Mortalidade por esquistossomose no Brasil: 1980-2003. *Rev Patol Trop* 2007; 6: 67-74.
23. Shiff CJ, Cmelik SH, Ley HE, Kriel RL. The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* 1972; 58: 476-80.
24. Nakazawa M, Fantappie MR, Freeman GL Jr, Eloi-Santos S, Olsen NJ, Kovacs WJ et al. *Schistosoma mansoni*: susceptibility differences between male and female mice can be mediated by testosterone during early infection. *Exp Parasitol* 1997; 85: 233-40.
25. Ghandour AM, Webbe G. A comparative study of the death of schistosome of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* in the skin of mice and hamsters. *J Helminthol* 1976; 50: 39-43.
26. Paraense WL. Observações adicionais sobre o sexo do *Schistosoma mansoni* nas infecções por cercárias de um único molusco. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1949; 47: 535-46.
27. Liberatos JD. *Schistosoma mansoni*: male-biased sex ratios in snails and mice. *Exp Parasitol* 1987; 64: 165-177.
28. Souza CP, Ribeiro PRB, Guimarães CT, Jannotti-Passos LK, Souza MA. Esquistossomose: a expansão de *Biomphalaria straminea* em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Cad Saúde Pública* 1996; 12:541-544.
29. Boissier J, Morand S, Moné H. A review of performance and pathogenicity of male and female *Schistosoma mansoni* during the life-cycle. *Parasitology* 1999; 119: 447-454.
30. Boissier J, Durand P, Moné H. PCR effectiveness for sexing *Schistosoma mansoni* cercariae: application for sexing clonal cercariae populations. *Mol Biochem Parasitol* 2001; 112: 139-141.
31. Martinez EM, Neves RH, Oliveira RMF, Machado-Silva JR, Rey L. Características biológicas e morfológicas de cepas brasileiras de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36: 557-564.
32. Barth LR, Fernandes APM, Rodrigues V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during in vitro cultivation. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1996; 38: 423-426.
33. El-Ridi R, Ozaki T, Inaba T, Ito M, Kamiya M. *Schistosoma mansoni* oviposition in vitro reflects worm fecundity in vivo: individual-, parasite age- and host-dependent variations. *Int J Parasitol* 1997; 27: 381-387.
34. Couto JLA, Vieira RCS, Barbosa JM, Rocha DB, Ferreira HS. Esquistossomose murina associada à desnutrição: alterações histopatológicas no fígado, baço e jejuno. *Rev Pat Trop* 2007; 36: 54-66.
35. Couto JLA, Vieira RCS, Barbosa JM, Machado SS, Ferreira HS. Alterações da função hepática de camundongos desnutridos e infectados pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41: 390-393.
36. Mesquita GV, Brandt CT, Santos SM, Maricevich JPBR. Avaliação de pacientes esquistossomóticos quanto ao conteúdo mineral ósseo, nível de magnésio corporal total e atividade da enzima Lecitina-Colesterol-Acetiltransferase em pós-esplenectomizados com auto-implante esplênico. *Rev Bras Ortop* 2004; 39: 49-58.
37. Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Fiocruz, Rio de Janeiro; 2008.
38. Siqueira LT, Ferraz AAB, Campos JM, Lima Filho JL, Albuquerque MCPA, Aires AL et al. Analysis of plasma citrulline and intestinal morphometry in mice with hepatosplenic schistosomiasis. *Surg infec* 2010; 11: 1-8.

39. Kelner S. Critical evaluation of surgical treatment of schistosomotic portal hypertension. Mem Inst Oswaldo Cruz 1992; 87: 357-368.
40. Atta AM, Magalhaes LA, De Alcantara FG, Pareja G. *Schistosomiasis mansoni*. I. Evolution of the pathologic picture: parasitologic, hematologic and histopathologic analyses. Rev Saude Publica 1981; 15: 72-92.
41. Abbas AK, Lichtman AH. Imunologia Celular e Molecular. 5rd ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
42. Wilson MK, Mentink-Kane M, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA. Immunopathology of schistosomiasis. Immunol Cell Biol 2007; 85: 148-154.
43. Dunne C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. Inflamm Bowel Dis 2001; 7: 136-145.
44. Nicoli JR, Vieira LQ. Microbiota gastrintestinal normal na doença e na saúde. In: Castro LP, Coelho LGV. Gastroenterologia. Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda 2004; 1037-1047.
45. Kaper JB, Sperandio V. Bacterial cell-to-cell signaling in the digestório tract. Infect Immunol 2005; 73: 3197-3209.
46. Mcfarland LV. Normal flora: diversity and functions. Microb Ecol Health Dis 2000; 12: 193-207.
47. Tannock GW. Normal Microflora, London: Chapman & Hall, 1995.
48. Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. Microbial-gut interactions in health and disease - Probiotics. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2004; 18: 299-313.
49. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shomchik M. Imunobiologia, o sistema imune na saúde e na doença. 5rd ed. ARTMED, Porto Alegre; 2002.
50. Kleessen B, Bezirtzoglou E, Matto J. Culture based knowledge on biodiversity development and stability of human digestório microflora. Microbiol Ecol Health Dis 2000; 2: 53-63.
51. Gencay C, Kilicoglu SS, Kismet K, Kilicoglu B, Erel S, Muratoglu S et al. Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. World J Gastroenterol 2008; 14: 3410-3415.
52. Zanoni FL, Benabou S, Greco KV, Moreno AC, Cruz JW, Filgueira FP et al. Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. Clinics (São Paulo) 2009; 64: 911-9.
53. Penna FS, Brasileiro Filho G. Lack of correlation between jejunal mucosal morphology and intestinal absorption in the hepatosplenic form of schistosomiasis mansoni. Arq Gastroenterol 1988; 25: 224-228.
54. Berg RD. Bacterial translocation from the digestório tract. Trends Microbiol 1995; 3:149-54.
55. Torres OJM, Campos ACL, Malafaia O, Melo TCM, Marques SG, Dietz UA. Translocação bacteriana: efeito de dieta imunoestimuladora em ratos com oclusão intestinal. Rev Col Bras Cir 1999; 26: 1-6.
56. Çelik A, Aydemir S, Alkanat M, Habif S, Keskinoglu A, Erdener D. Hemorrhagic Shock and Bacterial Translocation. J Appl Res 2005; 5: 196-205.
57. Tascilar N, Irkorucu O, Tascilar O, Comert F, Eroglu O, Bahadir B et al. Bacterial translocation in experimental stroke: What happens to the gut barrier? Bratisl Lek Listy 2010; 111: 194-199.
58. Schlegel RA, Callahan MK, Williamson P. The central role of phosphatidylserine in the phagocytosis of apoptotic thymocytes. Ann N Y Acad Sci 2000; 926: 217-225.

59. Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg* 2003;186: 301-305.
60. Deitch EA, Berg RD. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation of the gut flora in burned mice. *J Trauma* 1987; 27: 161-166.
61. Deitch EA, Berg R, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg* 1987; 122: 185-190.
62. Lambertucci JR, Rayes AAM, Serufo JC, Gerspacher-Lara R, Brasileiro-Filho G, Teixeira R, Antunes CMF, Goes AM, Coelho PMZ. Schistosomiasis and associated infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998; 93: 135-139.
63. Teixeira R, Coelho PMZ, Brasileiro Filho G, Azevedo Júnior GM, Serufo JC, Pfeilsticker FJ et al. Pathogenic aspects of pyogenic liver abscess associated with experimental schistosomiasis. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64: 298-302.
64. Goldani LZ, dos Santos RP, Sugar AM. Pyogenic liver abscess in patients with Schistosomiasis mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005; 99: 932-6.
65. Teixeira R, Coelho PMZ, Anjos JM, Filho GB, Júnior GMA, Serufo JC et al. Abscesso piogênico do fígado associado à esquistossomose mansônica experimental: I. A importância do ovo de *S. mansoni* na gênese do abscesso. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995; 28: 106.
66. Lima VCP, Maluf FC. Schistosomiasis: predisposing cause for the formation of hepatic abscesses? Case report. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1993; 37: 277-280.
67. Teixeira RS, Bina JC, Barreto SH. Bacterial infection of long duration due to genus *Escherichia* in a patient with *Schistosoma mansoni*. *Rev Med Bahia* 1976; 22: 70-74.
68. Farid Z, Trabolsi B, Hafez A. *Escherichia coli* bacteremia in chronic schistosomiasis. *Ann Trop Med Parasitol* 1984; 78: 661-662.
69. Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 1989; 124: 699-701.
70. Deitch EA, Sittig K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990; 159: 79-84.
71. Kellermeyer RW, Warren KS, Waldmann TS, Cook JA, Jordon P. Concentration of serum immunoglobulins in ST Lucians with schistosomiasis mansoni compared with matched uninfected St. Vicentians. *J Infect Dis* 1973;127: 557-62.
72. Capron A, Dessaint JP. Immunologic aspects of schistosomiasis. *Annu Rev Med* 1992; 43: 209-18.
73. Resende V, Petroianu A, Junior WCT. Autotransplantation for treatment of severe splenic lesions. *Emerg Radiol* 2002; 9: 208-12.
74. Petroianu A, Petroianu S. Anatomy of splenogastric vessels in patients with schistosomal portal hypertension. *Clin Anat* 1994; 7: 80-3.



FATORES PREDITIVOS PARA TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA E SEPSE EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À ESPLENECTOMIA TOTAL

Predictive factors for bacterial translocation and sepsis in mice subjected to total splenectomy

¹**Kedma de Magalhães Lima.** Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Helena de Lemos, nº 273, Ilha do Retiro, CEP: 50750-630, Recife, PE, Brasil. Responsável pelo projeto de pesquisa, execução da investigação, análise dos dados, escrita e formatação do artigo.

²**André de Lima Aires.** Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. Contribuiu com a execução da investigação, análise dos dados e formatação do artigo.

³**Thays Miranda Almeida.** Setor de Microbiologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami, LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. Contribuiu com a execução da investigação.

⁴**Leandro Ricardo Rodrigues de Lucena.** Pós-graduação em Biometria e Estatística Aplicada. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. Contribuiu com as análises estatísticas.

⁵**Maria Helena Madruga Lima-Ribeiro.** Biotério do Laboratório de Imunologia Keizo Asami, LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. Responsável pelas esplenectomias dos animais.

⁶**Célia Maria Machado Barbosa de Castro.** Pós-graduação em Medicina Tropical e Nutrição. Setor de Microbiologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami, LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil. Contribuiu com análise dos dados, escrita e formatação do artigo.

Correspondência para:

Kedma de Magalhães Lima.

Rua Helena de Lemos, nº 273, Ilha do Retiro, CEP: 50750-630, Recife, PE, Brasil.

kedma.biom@gmail.com

RESUMO

OBJETIVO: Investigar a presença de translocação bacteriana (TB) e sepse em camundongos esplenectomizados, e a presença de fatores preditivos, como peso, sexo, alterações da microbiota digestória e mucosa duodenal. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Camundongos Swiss webster (*Mus musculus*) (20fêmeas/20machos) foram divididos em dois grupos: esplenectomizados (10machos/10fêmeas) e controles (10machos/10fêmeas). Os grupos foram compostos por animais com 125 dias de nascidos, sendo o primeiro grupo submetido à esplenectomia total convencional. Após sete dias, os animais foram eutanasiados para estudo da TB, microbiota e morfometria intestinal. Realizou-se pesagem corporal no dia da esplenectomia até eutanásia. Para microbiota, fezes foram coletadas da região média do intestino delgado. Segmentos desta região foram seccionados para análise morfométrica. Amostras de sangue porta e periférico, linfonodos mesentéricos e fígado foram cultivadas para estudo da TB e sepse. **RESULTADOS:** Camundongos esplenectomizados machos e fêmeas apresentaram redução da evolução ponderal, do 125º ao 132º dia de nascidos ($p < 0,0001$); também, maior prevalência de coproculturas positivas em relação à densidade bacteriana por espécie e número de unidades formadoras de colônias (UFC). A análise morfométrica duodenal revelou redução na altura das vilosidades dos grupos esplenectomizados, machos e fêmeas, quando comparado aos respectivos controles ($p < 0,0001$ e $p = 0,0185$). Da mesma forma, observamos redução da área das vilosidades dos grupos esplenectomizados, machos e fêmeas, quando comparado aos respectivos controles ($p < 0,0001$, ambos). Em comparação aos outros grupos, os machos esplenectomizados apresentaram maiores taxas de TB e sepse. **CONCLUSÕES:** Não há evidências na literatura sobre presença de translocação bacteriana pós-esplenectomia. Nós observamos que asplênia aumenta a suscetibilidade à translocação bacteriana, e consequentemente, as doenças de origem séptica em camundongos. Sexo e alterações da mucosa duodenal podem influenciar no aumento deste fenômeno.

PALAVRAS-CHAVES: Esplenectomia, translocação bacteriana, sepse, linfonodos mesentéricos, microbiota intestinal, asplênia.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To investigate the presence of bacterial translocation (BT) and sepsis in splenectomized mice, and the presence of predictive factors such as weight, sex, changes in the digestive microbiota and duodenal mucosa. **MATERIALS AND METHODS:** Swiss Webster mice (*Mus musculus*) (20 females / 20 males) were divided into two groups: splenectomized (10 females / 10 males) and controls (10 females / 10 males). The groups were composed of animals born with 125 days, the first group that underwent conventional total splenectomy. After seven days, the animals were euthanized for study of TB, microflora and intestinal morphology. Body weight was performed on the day of splenectomy until euthanasia. For microbes, feces were collected from the middle of the small intestine. Segments of this region were cut for morphometric analysis. Samples of portal blood and peripheral, mesenteric lymph nodes and liver were cultured for the study of TB and sepsis. **RESULTS:** Mice splenectomized males and females showed reduced weight gain, the 125th day of the 132th day ($p < 0.0001$), also a greater prevalence of positive stool cultures in relation to the bacterial density by species and number of colony forming units (CFU). Morphometric analysis revealed duodenal villous height reduction in the splenectomized group, males and females, when compared to respective controls ($p < 0.0001$ and $p = 0.0185$). Similarly, we observed reduction in the area of the villi of the splenectomized groups, males and females, when compared to respective controls (p

<0.0001, both). Compared to other groups, males had higher TB and sepsis. **CONCLUSIONS:** There is no evidence in the literature about the presence of bacterial translocation after splenectomy. We note that asplenia increases susceptibility to bacterial translocation, and consequently, the septic-borne diseases in mice. Sex and duodenal mucosal changes may influence the increase of the phenomenon.

KEY WORDS: Splenectomy, bacterial translocation, sepsis, mesenteric lymph nodes, intestinal microflora, asplenia.

INTRODUÇÃO

Esplenectomia é um procedimento cirúrgico comum realizado principalmente em casos de trauma, mas também usado para tratar doenças hematológicas, imunológicas, metabólicas e oncológicas¹. À medida que o baço foi sendo estudado como órgão linfóide secundário, percebeu-se sua importância diante dos processos infecciosos e elevada morbimortalidade decorrente da asplenia a médio e longo prazo^{2,3}.

Sepse pós-esplenectomia é causada principalmente por bactérias encapsuladas, como pneumococos, meningococos e hemófilos influenza^{4,5,6}. Contudo, em pacientes imunodeprimidos, incluindo idosos, as infecções são provocadas principalmente por bactérias gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*⁷.

Translocação bacteriana é passagem de micro-organismos viáveis ou não, e de seus produtos, do lúmen intestinal para nódulos linfáticos mesentéricos e demais órgãos estéreis (fígado e baço), causando infecção ou estimulando o sistema imunológico^{8,9}. As três causas mais comumente envolvidas na translocação: (a) alteração da microbiota intestinal, resultando em crescimento bacteriano, (b) alterações físicas da barreira intestinal e (c) deficiência do sistema imunológico do hospedeiro, sendo esse o principal fator relacionado¹⁰. A prevalência é de 14% em pacientes submetidos à operação eletiva¹¹ e há relatos de predisposição ao desenvolvimento de sepsis no pós-operatório^{9,12}.

Esplenectomia implica em deficiência da atividade das células monomacrofágicas, responsáveis pela aderência as bactérias e destruição das mesmas; além da diminuição dos níveis de IgM desde o primeiro mês pós-operatório¹³. Estes fatores poderiam estar implicados na translocação bacteriana via trato digestório e consequentemente sepsis pós-esplênica. Entretanto, estudos realizados por SPAETH et al.¹⁴, mostraram que esplenectomia não parece promover translocação no intestino de camundongos. Também foi observado que a retirada do baço aumenta resistência a translocação induzida por

inoculação intraperitoneal de endotoxinas de *Escherichia coli*. Devendo, então, sepse pós-esplenectomia ser causada por inoculação intranasal ou intravenosa^{15, 16}. Desta forma, não há evidências na literatura sobre a presença de translocação bacteriana na pós-esplenectomia.

Diante da existência de evidências sobre a associação da esplenectomia com infecções por bactérias que fazem parte da microbiota intestinal e desenvolvimento de técnicas para evidênciação da translocação bacteriana, objetivou-se investigar a presença da translocação na pós-esplenectomia experimental; observando também fatores preditivos como peso, sexo, microbiota intestinal e morfometria duodenal.

MÉTODOS

Os procedimentos com foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados 40 camundongos Swiss webster (*Mus musculus*) com 125 dias de nascidos e ambos os sexos, divididos aleatoriamente em dois grupos:

- Esplenectomizados (E = 20) - Macho (EM = 10)
- Fêmea (EF = 10)
- Controle (C = 20) - Macho (CM = 10)
- Fêmea (CF = 10)

Os animais foram adquiridos no Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Universidade Federal de Pernambuco) e alojadas individualmente em gaiolas sob condições padronizadas de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade (entre 40% e 50%) e fotoperíodo (12 h claro/escuro) com água e ração *pellet* (23% proteína; LABINA®, Purina Nutrimentos Ltda, São Paulo, Brasil) *ad libitum*.

Esplenectomia

Após 125 dias de nascidos, dez camundongos machos e dez camundongos fêmeas foram submetidos à laparotomia mediana, com esplenectomia total convencional. Para isso foi realizada cirurgia aberta. Os camundongos foram anestesiados com solução cloridrato de xilazina 2% (10 mg/Kg) e cloridrato de cetamina 10% (115 mg/Kg).

Após anestesia geral, cada camundongo foi colocado em decúbito dorsal semilateral direito e utilizada incisão subcostal esquerda. Realizou-se tricotomia da região, seguindo-se da antisepsia com iodopovidona 1% e acesso à cavidade abdominal. Posteriormente,

ocorreu inspeção à procura de baço acessório e palpação para detectar aderência deste órgão, o que poderiam causar lacerações e sangramentos. Procedeu-se, então, com dissecação do ligamento gastroesplênico e ligadura dos vasos gástricos curtos. Localizou-se a artéria esplênica, com posterior reparo e ligadura, fazendo-se compressão do baço (autotransusão), que possibilitou retorno de grande parte do sangue à circulação sistêmica. O baço foi mobilizado medialmente, fazendo-se secção dos ligamentos. Os animais que foram a óbito durante a cirurgia foram excluídos do experimento e novos camundongos incluídos.

Realizou-se dissecação da veia esplênica, seguida de reparo e ligadura. Finalizou-se a cirurgia com dissecação do pedículo vascular, cuidadosamente, para evitar lesões no pâncreas e exérese do órgão, seguida de nova inspeção da cavidade e síntese da parede abdominal. Os animais foram mantidos vivos após cirurgia e sete dias depois, os grupos esplenectomizados e controle foram eutanasiados para estudo das amostras clínicas.

Avaliação da evolução ponderal

O peso corporal dos animais foi registrado a partir do 125º dia (antes da esplenectomia) até o 132º dia (antes da eutanásia). O peso foi medido em balança eletrônica (Marte, Mod. 1001, com capacidade para 1610g e sensibilidade até 0,1g). O registro dos pesos de cada animal foi realizado em protocolo individual.

Coleta de amostras biológicas e Avaliação da translocação bacteriana

Sete dias após esplenectomia, todos os camundongos, inclusive os não esplenectomizados, foram submetidos a eutanásia por *overdose* de anestésico. A coleta do sangue periférico (0,5mL) foi realizada por punção caudal após rigorosa assepsia da cauda e de todo o corpo do animal com iodopovidona para evitar contaminação das amostras e/ou tubo com a microbiota residente e transitória externa do camundongo.

Posteriormente, foi realizada tricotomia da região, seguindo-se da antissepsia e incisão mediana xifo pubiana com auxílio de tesoura cirúrgica. Coletou-se na seguinte ordem, fragmentos do fígado, sangue porta, linfonodos mesentéricos na região média do intestino delgado, fragmentos da porção distal do intestino e material fecal desta região. Para aspiração do sangue da veia porta (0,5mL), utilizou-se agulha 13 x 4,5 acoplada à seringa descartável de 1 mL.

Todo material coletado foi submetido ao cultivo para verificação de crescimento de micro-organismos. Fragmentos do fígado e linfonodos mesentéricos foram macerados e homogeneizados separadamente em placas de Petri estéreis. As amostras foram adicionadas a meio líquido de enriquecimento na proporção de 1:5 (Caldo cérebro coração – BHI, *BioMérieux*, Marcy l'Etoile, França) e incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24horas. Posteriormente, semeadas em placas de Petri contendo meios de cultivo (Agar Columbia + 5% sangue carneiro, Agar Mac Conkey, Chrom ID CPS e Agar Chocolate PolyviteX, *BioMérieux*, Marcy l'Etoile, França). A observação das placas foi realizada após 24-72 horas de incubação. Após crescimento, as espécies bacterianas foram identificadas por testes bioquímicos convencionais e confirmadas em equipamento automatizado (VITEK 2 System® *BioMerieux*, Marcy l'Etoile, França).

Avaliação da microbiota intestinal

Nos animais eutanasiados e submetidos à necropsia, após incisão em linha média e visualização do trato intestinal, procedeu-se o isolamento de fragmento médio do intestino delgado e coleta de material entérico.

Para determinação do número de unidades de colônias por grama de fezes (UFC/g fezes) utilizou-se mesmo método adotado por BISSO¹⁷. Nos tubos contendo amostras fecais foi acrescentada solução salina estéril/NaCl 0,9% (1:10). Após homogeneização mecânica, obteve-se diluição inicial 10^{-1} , seguida de diluições seriadas, até diluição de 10^{-6} . A partir das cinco diluições preparadas, foram inoculados 0,1 ml de cada na superfície de placas contendo meios cromogênicos (Chrom ID CPS®, *BioMerieux*, Marcy l'Etoile, France). Espalhou-se o inóculo com auxílio da alça de Drigalsky. Em seguida, as placas foram incubadas invertidas a 37°C durante 24-48 horas. As bactérias foram identificadas de acordo com a morfologia colonial, microscópica e características bioquímicas¹⁸. O cálculo do UFC foi dado pelo número de colônias detectadas no meio de cultura x fator decimal de diluição das fezes x 10 (fator para expressar o resultado por grama de fezes, visto que o volume semeado em cada meio foi 0,1mL).

Análise morfométrica da mucosa duodenal

Biópsias do intestino delgado foram colhidas e lâminas contendo cortes sagitais foram coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação morfológica. As variáveis consideradas no estudo histológico foram às medidas da altura e área das vilosidades, bem

como superfície total de área da mucosa (perímetro). As análises morfométricas foram obtidas em microscópio óptico acoplado a videocâmara por observador que desconhecia qualquer dado sobre os grupos dos animais. As imagens capturadas foram armazenadas em computador e analisadas pelo software *Image J*. As medições foram feitas em pixels (unidade de resolução de imagem) da altura e área das vilosidades, bem como superfície total da área da mucosa (perímetro).

Apresentação e análise dos dados

Os resultados das variáveis quantitativas foram expressos por média e desvio padrão e os resultados das variáveis qualitativas, por frequências absolutas e relativas. Foi utilizado teste de Friedman para verificar possível diferença do peso dos camundongos em relação ao tempo de aferição em cada grupo. Utilizou-se teste de Mann-Whitney para verificar possível diferença em média do peso dos camundongos esplenectomizados, da área total, altura da vilosidade e área da vilosidade em relação aos grupos machos esplenectomizados x machos controles, fêmeas esplenectomizadas x fêmeas controles, machos esplenectomizados x fêmeas esplenectomizadas e machos controles x fêmeas controles. Realizou-se teste exato de Fisher para verificar possível diferença entre frequências. Foi adotado nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Análise do peso ponderal

De acordo com os dados apresentados no gráfico 1, os camundongos esplenectomizados machos apresentaram redução da evolução ponderal, do 125º (antes da esplenectomia) ao 132º dia de nascidos (antes da eutanásia) ($p < 0,0001$). Nos camundongos controles machos observamos aumento da evolução do peso ponderal em relação aos períodos de avaliação ($p < 0,0001$). Da mesma forma, os camundongos esplenectomizados fêmeas demonstraram redução da evolução do peso do 125º ao 132º dia de nascidos ($p < 0,0001$), houve diferenças estatisticamente significantes em comparação aos pesos dos controles fêmeas ($p < 0,0001$). Os camundongos machos esplenectomizados apresentaram a mesma redução da evolução do peso ponderal dos camundongos fêmeas esplenectomizados nos sete dias de avaliação pós-cirúrgica ($p = 0,2786$).

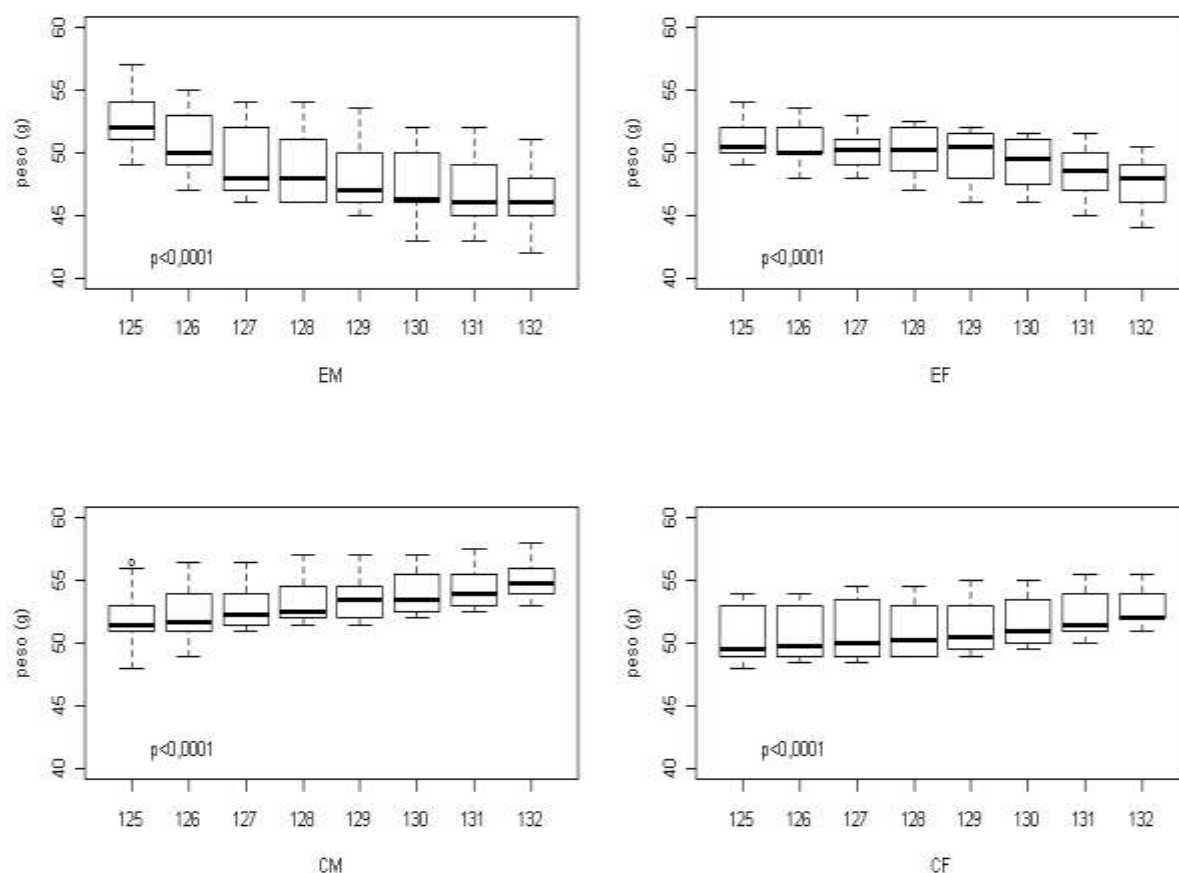


Gráfico 1. Boxplot dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição e aos grupos. **EM** – Esplenectomizados machos, **EF** – Esplenectomizados fêmeas, **CM** – Controles machos, **CF** – Controles fêmeas.

Estudo da microbiota entérica

A tabela 2 demonstra a análise qualitativa e quantitativa das amostras entéricas quanto à presença de bactérias nos grupos esplenectomizados e controle. Observamos aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos subgrupos machos e fêmeas, esplenectomizados e controle. Entretanto, os camundongos esplenectomizados apresentaram maior variação nas coproculturas em relação à densidade bacteriana por espécies e ao número de UFC. Na tabela 1, para melhor compreensão das diferenças entre os grupos esplenectomizados e controle, unimos os resultados dos subgrupos machos e fêmeas.

TABELA 1 - Distribuição da frequência de bactérias por UFC ($\log_{10}$ /g de fezes) isoladas de amostras entéricas de camundongos esplenectomizados e controle.

Isolados bacterianos	Grupos experimentais					
	Esplenectomizados			Controle		
	n	%	UFC ($\log_{10}$)/g	n	%	UFC ($\log_{10}$)/g
<i>Proteus mirabilis</i>	8	40	10^5	5	25	10^4
<i>Staphylococcus coag neg</i>	5	25	10^5	2	10	10^3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	25	10^6	4	20	10^4
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	100	10^8	18	90	10^7
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	50	10^6	6	30	10^4
<i>Escherichia coli</i>	8	40	10^7	4	20	10^5

Nota: Os resultados da contagem foram expressos em logaritmo decimal do número de unidades formadoras de colônias por grama de fezes.

Análise histomorfométrica do duodeno

Aspectos dentro dos padrões de normalidades anatômicas e histológicas foram visualizados nos grupos controles de ambos os sexos. Nos achados histopatológicos do duodeno, na análise da altura das vilosidades, área das vilosidades e área total, os animais controles não apresentaram diferenças em relação ao sexo ($p=0,5452$, $p=0,3634$ e $p=0,9118$, respectivamente). Para estes parâmetros, também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os machos e fêmeas esplenectomizados ($p=0,1655$, $p=0,6120$ e $p=0,1230$, respectivamente).

A análise morfométrica duodenal revelou redução significativa na altura das vilosidades de ambos os grupos esplenectomizados, machos e fêmeas, quando comparado aos respectivos controles ($p<0,0001$ e $p=0,0185$, respectivamente). Da mesma forma, observamos redução da área das vilosidades de ambos os grupos esplenectomizados, machos e fêmeas, quando comparado aos respectivos controles ($p<0,0001$ e $p<0,0001$, respectivamente). Entretanto, não observamos diferença significativa na área total em relação a ambos os grupos esplenectomizados, quando comparado aos respectivos controles ($p=0,1051$ e $p=0,6305$) (Tabela 2).

TABELA 2 - Comparação das médias das alturas das vilosidades, das áreas das vilosidades e das áreas totais em relação aos camundongos dos grupos EM, EF, CM e CF.

Medidas	Grupos (Média±DP)					
	Machos esplenectomizados	Machos Controle	p-valor	Fêmeas esplenectomizados	Fêmeas Controle	p-valor
ALV	109,2±2,0	118,5±6,7	<0,0001*	112,4±5,3	123,3±12,2	0,0185*
AV	2,9±0,2	3,7±0,5	<0,0001*	3,0±0,1	3,4±0,1	<0,0001*
AT	459,2±65,6	519,5±97,9	0,1051	509,3±79,4	532,0±102,9	0,6305

ALV- altura da vilosidade; AV- área da vilosidade; AT- área total; *- estatisticamente significante.

Estudo da translocação bacteriana

Os camundongos controles e esplenectomizados, apresentaram translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos. Entretanto, a prevalência foi maior nos camundongos esplenectomizados. As taxas de translocação bacteriana em todos os grupos estão resumidas na Tabela 3. Com relação à translocação para sangue porta, fígado e sangue periférico, apenas animais esplenectomizados apresentaram colônias bacterianas nos meios de cultura contendo as mostras teciduais, sendo mais prevalente em machos (Tabela 4). Não houve crescimento bacteriano nos meios específicos para micro-organismos anaeróbios e fungos. Observa-se que as bactérias analisadas nas culturas dos tecidos fazem parte das observadas nos meios que continham diluições da microbiota intestinal (Figura 1). Em alguns casos, na microbiota de camundongos esplenectomizados, as bactérias que se sobressaíam as demais, foram responsáveis pela translocação para linfonodos mesentéricos, sangue porta, fígado e sangue periférico.

TABELA 3 - Incidência e locais da translocação bacteriana dos grupos esplenectomizados e controle, machos e fêmeas.

Grupos	Linfonodos Mesentéricos	Sangue Porta	Fígado	Sangue Periférico
Machos esplenectomizados(I)	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	8/10 (80,0%)
Fêmeas Esplenectomizados(II)	10/10 (100,0%)	7/10 (70,0%)	5/10 (50,0%)	3/10 (30,0%)
Machos Controles(III)	1/10 (10,0%)	0/10 (0,0%)	0/10 (0,0%)	0/10 (0,0%)
Fêmeas Controles(IV)	2/10 (20,0%)	0/10 (0,0%)	0/10 (0,0%)	0/10 (0,0%)
<i>Valor de p</i>				
I com II	1,0000	0,2104	0,0389	0,0722
I com III	0,0003	<0,0001	<0,0001	0,0014
II com IV	0,0014	0,0049	0,0389	0,2104
III com IV	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

TABELA 4 - Distribuição da frequência de bactérias responsáveis por translocação bacteriana nos grupos estudados.

Isolados bacterianos	Grupos experimentais															
	Esplenectomizados								Controles							
	Machos				Fêmeas				Machos				Fêmeas			
	LM	SP	FI	SPe	LM	SP	FI	SPe	LM	SP	FI	SPe	LM	SP	FI	SPe
<i>Enterococcus faecalis</i>	10%	30%	30%	10%	10%	10%	10%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>E. faecalis</i> / <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	50%	20%	10%	0%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Escherichia coli</i>	0%	10%	10%	10%	30%	20%	20%	0%	10%	0%	0%	0%	20%	0%	0%	0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0%	0%	0%	0%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Proteus mirabilis</i>	10%	10%	10%	10%	20%	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>E.coli/E.faecalis</i>	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0%	10%	10%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>P. aeruginosa</i> / <i>E. faecalis</i>	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0%	0%	10%	10%	10%	20%	20%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>S. aureus</i> / <i>E. faecalis</i>	10%	10%	0%	0%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Sta coag neg</i>	0%	10%	20%	30%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

LM- linfonodos mesentéricos; SP- sangue porta; FI- fragmentos do fígado; SPe- sangue periférico.

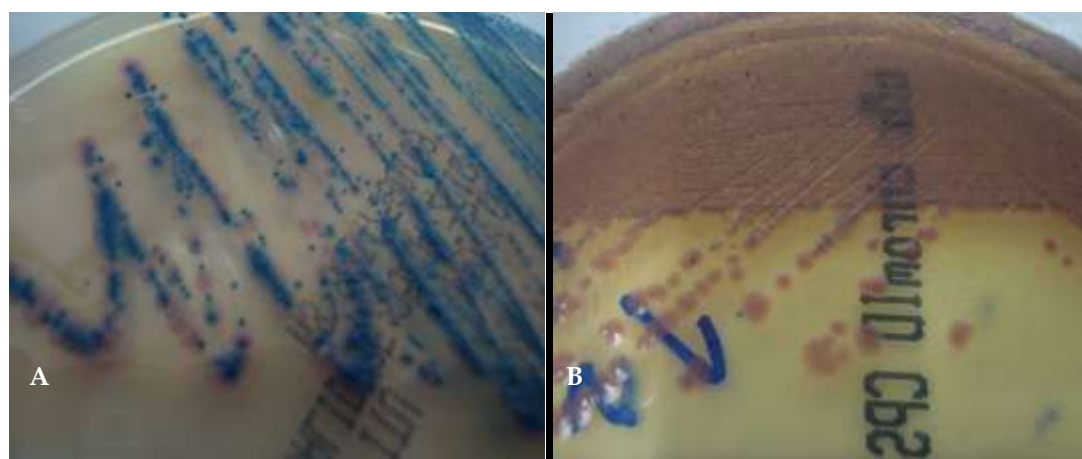


FIGURA 1 – **A.** Colônias bacterianas observadas na microbiota intestinal de camundongos esplenectomizados (Meio CPS ID®: verde – *Enterococcus faecalis*; marrom – *Escherichia coli*). **B.** Colônias de *Escherichia coli* observadas no sangue periférico do mesmo camundongo da amostra anterior.

DISCUSSÃO

Mesmo sabendo que ausência do baço é compatível com a vida aparentemente normal, é importante enfatizar que este órgão desempenha funções imunológicas relevantes, tais como depuração de bactérias da corrente sanguínea e produção precoce de anticorpos contra várias partículas antigênicas. Desta forma, asplênia aumenta suscetibilidade a doenças de origem séptica, favorecendo óbito entre pacientes¹⁹. O efeito imunoprotetor do baço tem sido testado em diversas pesquisas experimentais, mediante exposição a bactérias, especialmente em estudos de mortalidade e capacidade depuradora. Tais trabalhos apresentam grande diversidade de modelos, sob múltiplos aspectos: espécie e idade dos animais, espécie bacteriana inoculada, via de inoculação, intervalo de tempo decorrido desde a realização da esplenectomia total, bem como dos métodos de avaliação²⁰. Entretanto, não há relatos na literatura atual sobre infecções bacterianas devido à translocação via trato digestório em animais asplênicos.

Em estudo com ratos submetidos à esplenectomia total, após 90 dias, foi observado aumento de peso corporal, e consequentemente, aumento significativo do colesterol total, das frações LDL e VLDL e dos triglicérides²¹. De acordo com os nossos dados, camundongos esplenectomizados, machos e fêmeas, apresentaram redução da evolução ponderal em relação a camundongos controles durante até sete dias após cirurgia. Esta redução pode estar relacionada à debilidade do animal no pós-cirúrgico, caracterizada pela dificuldade em se alimentar. Este fator prejudicou o estado nutricional do animal e, consequentemente, o estado imunológico, favorecendo a presença de infecções.

ALBERTI et al.²², estudando mortalidade pós-esplenectomia em ratos, observou que as mortes ocorriam de maneira súbita, sem mudanças físicas ou comportamentais evidentes, nem alterações macroscópicas abdominais ou torácicas durante necropsia, principalmente nas duas primeiras semanas pós-cirúrgica. Por este motivo, no presente estudo, os camundongos foram eutanasiados uma semana após cirurgia, assim, evitou-se que os animais fossem a óbito sem mostrar qualquer sinal de debilidade, inapetência ou adinamia que não pudessem sugerir estado clínico de infecção.

Uma das causas envolvidas na translocação bacteriana é a alteração da microbiota intestinal, resultando em excessivo crescimento bacteriano²³. De acordo com nossos dados, os camundongos esplenectomizados machos e fêmeas apresentaram maior variação nas coproculturas tanto com relação à densidade bacteriana por espécies quanto ao número de UFC. Segundo estudos de BALZAN et al.²⁴, as bactérias mais comumente observadas no estômago e na parte superior do intestino são gram-positivas e aeróbias. Já a partir do íleo

distal, bactérias gram-negativas excedem as gram-positivas. Em nosso estudo com camundongos, houve predomínio de bactérias gram-positivas na região média do intestino, e estas aumentaram em ambos os grupos esplenectomizados.

Tanto a microbiota da região alta do intestino, como baixa, é importante e traz benefícios para o hospedeiro, contribuindo na defesa contra agentes estranhos, pois possui efeitos de trofismo similares ao da mucosa intestinal. Essa desempenha, também, papel relevante no desenvolvimento e competência do sistema imunológico^{25, 26}.

No intestino delgado, as vilosidades e microvilosidades ao longo do órgão possibilitam grande área de absorção, que deve estar intacta para executar papel de defesa e de barreira, prevenindo passagem de agentes e moléculas tóxicas²⁷, bem como, de fatores pró-inflamatórios do lúmen para circulação²⁸. A integridade da barreira intestinal é primordial para prevenção da translocação bacteriana. Injúrias às junções epiteliais permitem que micro-organismos utilizem essas áreas afetadas como via alternativa de acesso na mucosa intestinal²⁹. Condições clínicas críticas como queimaduras, infecções bacterianas, desnutrição, redução do fluxo esplâncnico e obstrução intestinal associam-se ao aumento da permeabilidade intestinal³⁰. No presente estudo, a análise morfológica duodenal revelou redução na altura e área das vilosidades dos grupos esplenectomizados, machos e fêmeas.

A translocação bacteriana relaciona-se com diminuição da função do sistema imunológico intestinal, tanto em nível celular quanto humoral. Estudos com pacientes sépticos demonstraram menor quantidade de IgA e IgM na lâmina própria e reduzidos níveis de imunoglobulinas na superfície mucosa do intestino delgado. Assim, propõe-se que resposta ao estresse induzido pela septicemia resulta em queda na síntese de imunoglobulinas, reduzindo a competência imunológica e facilitando a aderência de bactérias à superfície de enterócitos, etapa inicial do processo de translocação bacteriana^{30,31}.

BERG³² e BERG³³ descreveram o processo de translocação em três etapas. Na primeira, a bactéria normalmente não atinge outros órgãos permanecendo restrita aos nódulos dos linfonodos mesentéricos. Já na segunda, a bactéria alcança outros órgãos como fígado, baço e rins, o que está associado com o grau de eficiência do sistema imunológico do hospedeiro. A combinação dos mecanismos da translocação bacteriana leva à terceira etapa, na qual a bactéria atinge a cavidade peritoneal e a corrente sanguínea.

Na análise presente, foi observada translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, principalmente em animais esplenectomizados. Entretanto, também houve

presença de bactérias intestinais em linfonodos mesentéricos de animais controles. Sabe-se que translocação bacteriana ocorre espontaneamente em indivíduos sadios e acredita-se que seja um evento fisiológico e necessário para geração de células imunocompetentes pelo tecido linfóide associado à mucosa digestória (GALT) ^{10,30,34}.

O processo de translocação encontra-se agravado em pacientes com obstrução intestinal, isquemia/reperfusão, pancreatite grave, choque hemorrágico, queimaduras, traumas, câncer intestinal ou doença inflamatória do intestino. Além disso, pacientes imunossuprimidos, desnutridos ou em uso prolongado de nutrição parenteral e com cirrose hepática/insuficiência hepática aguda apresentam maior risco de translocação bacteriana ^{33,35,36}. Da mesma forma, observamos que esplenectomia experimental pode favorecer translocação e, conseqüentemente, sepse.

No presente estudo, identificamos translocação por bactérias gram-positivas e gram-negativas, e em alguns casos co-translocação por espécies diferentes. Segundo alguns autores ^{37,38,39}, uma série de bactérias anaeróbias facultativas do intestino estão associadas a esse evento, podendo causar infecção extra-intestinal, a saber, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*. Organismos aeróbicos translocam mais facilmente, uma vez que o oxigênio sanguíneo inibe o crescimento de bactérias entéricas anaeróbias ³⁴. Tem sido proposto que estas bactérias intestinais, potencialmente patogênicas, ou endotoxinas, possam iniciar ou perpetuar estado de septicemia em pacientes que não apresentam focos de infecção, propiciando desenvolvimento de falência múltipla orgânica ^{12,23}.

Neste estudo, demonstramos que na primeira semana pós-esplenectomia ocorre translocação bacteriana intestinal para linfonodos mesentéricos, fígado, sangue porta e periférico. Este evento pode ser favorecido pela diminuição da evolução do peso corporal, alteração da microbiota intestinal e da mucosa duodenal. Os animais machos esplenectomizados foram mais acometidos pela sepse, o que poderia ser explicado pelo grau de eficiência do sistema imunológico do animal. ALBERTI et al. ²² observou que a esplenectomia aumenta a mortalidade de ratos, e as fêmeas murinas apresentam maior resistência à asplenia e, conseqüentemente, menor mortalidade que os machos. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliação deste mecanismo em relação ao sexo. Após os resultados do presente trabalho, poderemos surgir que infecções pós-esplenectomias podem, também, ser causadas pelos próprios componentes da microbiota intestinal, devido ao fenômeno de translocação bacteriana.

REFERENCIAS

1. Phillips GS, Radosevich MD, Lipsett PA. Splenic abscess. Arch Surg. 1997; 132 (12): 1331-5.
2. Petroianu A. Cirurgia do baço. In: Petroianu A, editor. Clínica cirúrgica. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 429-42.
3. Ferraz AP. Complicações cirúrgicas das esplenectomias. In: Petroianu A, editor. O baço. São Paulo: CLR Baliero; 2003. p. 307-10.
4. Cole JT, Flaum MA. Postsplenectomy infections. South Med J. 1992; 85(12): 1220-6.
5. Norris RP, Vergis EN, Yu VL. Overwhelming postsplenectomy infection: a critical review of etiologic pathogens and management. Infect Med. 1996; 13(9): 779-83.
6. Tennenberg AM, Sepkowitz KA. Postsplenectomy infections in oncologic patients. Infect Med. 1996; 13 (1): 15-21.
7. Petroianu A. Pós-operatório em cirurgias do baço. In: Petroianu A, editor. O baço. São Paulo: CLR Baliero. 2003; 281-98.
8. Reddy BS, Gatt M, Sowdi F, Macfie J. Surgical manipulation of the large intestine increases bacterial translocation in patients undergoing elective colorectal surgery. Colorec Dis. 2006; 8: 596-600.
9. Katouli M, Ramos NL, Nettelbladt CG, Ljungdahl M, Robinson W, Ison HM, Brauner A, Möllby R. Host species-specific translocation of *Escherichia coli*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009; 28(9): 1095-103.
10. Zaroni FL, Benabou S, Greco KV, Moreno ACR, Cruz JWMC, Filgueira FP *et al.* Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. Clinics. 2009; 64(9): 911-919.
11. MacFie J, Reddy BS, Gatt M, Jain PK, Sowdi R, Mitchell CJ. Bacterial translocation studied in 927 patients over 13 years. Br J Surg. 2006; 93(1): 87-93.
12. Shiomi H, Shimizu T, Endo Y, Murata S, Kurumi Y, Uji Y, Tani T. Relations among circulating monocytes, dendritic cells, and bacterial translocation in patients with intestinal obstruction. World J Surg. 2007; 31(9): 1806-12.
13. Times W, Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. Annals of Surgery. 1991; 215: 256-260.
14. Spaeth G, Specian RD, Berg RD, Deitch EA. Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation. J Trauma. 1990; 30: 1267-72.
15. Schwartz PE, Sterioff S, Much P, Melton III LJ, Offord KP. Postsplenectomy sepsis and mortality in adults. JAMA. 1982; 248: 2279-83.
16. Leemans R, Harms G, Rijkers GT, Timens W. Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. Clin Exp Immunol. 1999; 117: 596-604.
17. Bisso LM. Modelo Murino de inflamação intestinal crônica: Avaliação quantitativa da dinâmica da microbiota intestinal (Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal Fluminense) Rio de Janeiro, 2008.

18. Koneman EW. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6rd ed. São Paulo: MEDSI; 2008.
19. Balagué C, Targarona EM, Vela S, Chierichetti C, Kobus C, Alonso V, García A, Pey A, Garriga J, Trías M. Esplenectomia laparoscópica: resultados a largo plazo de una serie prospectiva de 257 pacientes en función del diagnóstico hematológico. *Cir Esp*. 2004; 75: 29-34.
20. Marques RG, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo FM. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. *Acta Cir Bras*. 2002; 17(6): 388-393.
21. Paulo ICAL, Paulo DNS, Silva AL, Foletto RM, Colnago GL, Vargas PMe. Níveis de lípides plasmáticos em ratos submetidos à esplenectomia total, ligadura simultânea dos vasos esplênicos e à esplenectomia subtotal com preservação do pólo inferior. *Rev Col Bras Cir*. 2005; 32(5): 229-236.
22. Alberti LR, Rocha RF, Caldeira DAM, Petroianu A. Análise de sobrevivência relacionada ao sexo, após esplenectomia, em modelo animal. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007; 29(2): 119-122.
23. Wiest R, Rath HC. Bacterial translocation in the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003; 17: 397-425.
24. Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleve R, Zilberstein B, Cecconello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(4): 464-71.
25. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hosp*. 2007; 22: 14-19.
26. Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov*. 2008; 7(2): 123-9.
27. Pirlich M, Norman K, Lochs H, Bauditz J. Role of intestinal function in cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006; 9(5): 603-6.
28. Farhadi A, Banan A, Fields J, Keshavarzian A. Intestinal barrier: an interface between health and disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18(5): 479-97.
29. Acheson DW, Luccioli S. Microbial-gut interactions in health and disease. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004; 18(2): 387-404.
30. MacFie J. Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutrition*. 2000; 16: 606-11.
31. Woodcock NP, Robertson J, Morgan DR, Gregg KL, Mitchell CJ, MacFie J. Bacterial translocation and immunohistochemical measurement of gut immune function. *J Clin Pathol*. 2001; 54(8): 619-23.
32. Berg RD. Bacterial translocation from the digestório tract. *Trends Microbiol*. 1995; 3(4): 149-54.
33. Berg RD. Bacterial translocation from the digestório tract. *Adv Exp Med Biol*. 1999; 473: 11-30.
34. Lichtman SM. Bacterial translocation in Humans. *JPGN*. 2001; 33(1): 1-10.
35. De-Souza DA, Greene LJ. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: effect of glutamine. *Crit Care Med*. 2005; 33(5): 1125-35.

36. Gatt M, Reddy BS, MacFie J. Review article: bacterial translocation in the critically ill--evidence and methods of prevention. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 25(7): 741-57.
37. Silva RM, Buzzutti FI, Siliano PR, Menchaca-Diaz JL, Siqueira AF, Koh HJ. Bacterial translocation is dependent on bacterial plasmid-borne genetic determinants. *Transplant Proc.* 2002; 34(3): 999-1000.
38. Seehofer D, Rayes N, Schiller R, Stockmann M, Muller AR, Schirmeier A, Schaeper F, Tullius SG, Bengmark S, Neuhaus P. Probiotics partly reverse increased bacterial translocation after simultaneous liver resection and colonic anastomosis in rats. *J Surg Res.* 2004; 117(2): 262-71.
39. Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL, Levine AD. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. *J Pediatr Surg.* 2005; 40(3): 470-7



Sepse pós-esplenectomia na esquistossomose crônica como consequência da translocação bacteriana

Postsplenectomy sepsis in chronic schistosomiasis as a result of bacterial translocation

Kedma de Magalhães Lima¹, André de Lima Aires², Leandro Ricardo Rodrigues de Lucena³, Thays Miranda Almeida⁴, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque⁵, Maria Helena Madruga Lima-Ribeiro⁶ & Célia Maria Machado Barbosa de Castro⁶.

¹Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Rua Helena de Lemos, nº 273, Ilha do Retiro, CEP: 50750-630, Recife, PE, Brasil.

²Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.

³Pós-graduação em Biometria e Estatística aplicada, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil.

⁴Setor de Microbiologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami – LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.

⁵Professora Adjunta do Departamento de Medicina Tropical/Parasitologia, Universidade Federal de Pernambuco. Setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.

⁶Médica Cirurgiã Veterinária, Biotério do Laboratório de Imunologia Keizo Asami - LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.

⁷Professora Associada do Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco. Setor de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE. Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

Introdução: Esquistossomose pode provocar alterações no sistema imunológico, dano ao intestino, sistema porta e linfonodos mesentéricos. Apesar dos inúmeros relatos sobre doenças bacterianas associadas a esquistossomose, não foram encontrados trabalhos que esclareçam dúvidas a respeito da translocação bacteriana (TB), infecção e sepse na doença crônica, mesmo após esplenectomia. Objetivamos compreender as causas das coinfeções e sepse, considerando TB e influência da doença crônica em esquistossomóticos esplenectomizados. **Métodos:** Após aprovação pelo Comitê de Ética, 40 camundongos fêmeas Swiss webster (*Mus musculus*) com 35 dias de nascidos foram divididos em 4 grupos, Esquistossomóticos (ESF=10), Esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF=10), Esplenectomizados (EF=10) e Controle (CF=10). A infecção foi realizada via percutânea com 50 cercárias de *S. mansoni* (SLM). Após 125 dias de nascidos, metade dos camundongos parasitados e não parasitados foram submetidos à esplenectomia total convencional. O peso corporal foi registrado nos sete dias que se seguiram pós-esplenectomia, quando os camundongos foram eutanasiados para estudo da TB, microbiota e morfometria intestinal. **Resultados:** Em relação ao controle, observou-se redução da evolução ponderal nos EF, ESF e ESEF ($p < 0,0001$). Também nestes grupos, na microbiota intestinal, houve aumento de no mínimo 1000 UFC quando comparados ao CF. Os EF, ESF e ESEF apresentaram diminuição da altura das vilosidades, área das vilosidades e área total (perímetro) ($p < 0.0001$). Ocorreu maior taxa de translocação bacteriana e sepse no grupo ESEF, sendo observados maiores índices de coinfeções por diferentes gêneros de bactérias. **Conclusões:** Em ESEF, a TB e sepse ocorreram de forma mais acentuada. Este fato pode está associado as respostas imunológicas ainda mais deficientes, pela ausência do baço e a redução da evolução nutricional potencializada por ambas intercorrências. São necessários outros estudos afim de confirmar e ampliar os resultados encontrados.

PALAVRAS-CHAVES: esquistossomose, esplenectomia, translocação bacteriana, sepse, linfonodos mesentéricos.

ABSTRACT

Introduction: Schistosomiasis can cause changes in the immune system, damage to the intestine, mesenteric lymph nodes and portal system. Despite numerous reports of bacterial diseases associated with schistosomiasis, there are no studies investigating questions about the bacterial translocation (TB), infection and sepsis in chronic disease, even after splenectomy. We aim to understand the causes of co-infection and sepsis, considering the influence of TB and chronic splenectomy in schistosomiasis. **Methods:** After approval by the Ethics Committee, 40 female Swiss Webster mice (*Mus musculus*) with 35 days were divided into four groups, Schistosomiasis (ESF = 10), Schistosomiasis Splenectomized (ESEF = 10), Splenectomy (EF = 10) and Control (FC = 10). The infection was performed percutaneously with 50 cercariae of *S. mansoni* (SLM). After 125 days of live births, half of the mice infected and not infected underwent conventional total splenectomy. Body weight was recorded in seven days that followed after splenectomy, when the mice were euthanized for study of TB, microbiota and intestinal morphology. **Results:** Compared to control, there was a reduction of weight gain in EF, ESF and ESEF ($p < 0.0001$). Also in these groups, the intestinal microbiota, an increase of at least 1000 CFU compared to CF. The EF, ESF and ESEF showed a decrease in villus height, villus area and total area (perimeter) ($p < 0.0001$). Occurred higher rate of bacterial translocation

and sepsis ESEF in the group, with higher rates of co-infection by different genera of bacteria. **Conclusions:** In ESEF, TB and sepsis occurred more sharply. This can be associated with immune responses even more disabled by the absence of the spleen and reduced nutritional status thus increasing by both events. Further studies are necessary in order to confirm and extend the findings.

KEYWORDS: schistosomiasis, splenectomy, bacterial translocation, sepsis, mesenteric lymph nodes.

INTRODUÇÃO

Translocação bacteriana é definida como a migração de bactérias do lúmen intestinal para linfonodos mesentéricos ou outros sítios extra-intestinais¹. A fisiologia da translocação depende do papel de barreira exercido pela mucosa intestinal, sendo auxiliada pelos componentes do sistema imune celular e humoral². Membros da família Enterobacteriaceae (como *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp), enterococos e outras espécies de estreptococos são mais eficazes na translocação para linfonodos mesentéricos. Dentre as espécies da microbiota intestinal, estes micro-organismos são os mais comumente implicados em episódios infecciosos em imunodeprimidos e capazes de translocar mesmo através da mucosa intestinal histologicamente normal³.

As evidências de imunodepressão provocadas pela esquistossomose em modelo experimental sempre foi objetivo em várias pesquisas⁴⁻⁶. Além disso, na doença crônica, a circulação mesentérica se encontra prejudicada por ação traumática, irritativa e espoliativa dos parasitos adultos que se alimentam de sangue e obstruem os vasos. Os ovos espiculados do *Schistosoma mansoni* provocam ação traumática ao atravessar a mucosa intestinal para serem expelidos nas fezes. Entretanto, parte destes ovos fica retido na mucosa resultando em reação inflamatória granulomatosa crônica⁷. Em 2005, FERRAZ et al.⁸, evidenciaram prevalência de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos de pacientes com esquistossomose mansônica crônica; e concluíram que presença bacteriana poderia ser consequência da translocação e favorecer desenvolvimento de complicações infecciosas pós-operatória.

Tendo em vista que o baço produz IgM, é esperada sua redução após esplenectomia. A asplênia em esquistossomóticos poderia facilitar translocação microbiana e permitir sepse, contudo, pesquisas demonstraram que, nestes pacientes, os níveis de IgM mantêm-se elevados mesmo após esplenectomia subtotal e total⁹⁻¹¹. Para alguns autores, este achado pode ser considerado como subsídio para explicar reduzida taxa de infecção encontrada nos pacientes esquistossomóticos esplenectomizados^{12,13}.

Alguns estudos demonstram ainda que, mesmo na esquistossomose associada à desnutrição, não são observados quadros sépticos graves em pacientes de pós-operatório, assim como não há registro de tais complicações, de forma significativa, durante a história de sua afecção¹⁴. Na doença crônica, a IgM media a ação dos eosinófilos sobre os antígenos do esquistossoma e seus ovos¹⁵. Portanto, pode-se considerar que haja correlação direta entre os níveis dessa imunoglobulina e gravidade da esquistossomose¹⁶. Por outro lado, no trauma, é bem conhecida a queda dos níveis de IgM após esplenectomia total^{11,17}.

Mesmo Petroianu & Antunes¹² concluem que a esplenectomia subtotal e total em pacientes esquistossomóticos terem sido responsáveis pelo aumento da IgM e da IgA, e que mesmo na ausência de baço, as defesas imunológicas dos pacientes esquistossomóticos pareçam ser preservadas, em alguns estudos, foram encontradas infecções bacterianas associada a esquistossomose, causando sepse e bacteremia pré ou pós-operatória^{5,8,18}. Desta forma, há necessidade de esclarecimento com estudos experimentais que possam evitar fatores de confundimento. Assim, objetivou-se investigar a presença da translocação na pós-esplenectomia; observando também o desenvolvimento ponderal, microbiota intestinal e morfometria duodenal de camundongos na fase crônica da infecção pelo *S. mansoni*.

MÉTODOS

Animais e formação dos grupos experimentais

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, foi realizado estudo experimental de intervenção utilizado 40 camundongos fêmeas Swiss webster (*Mus musculus*) com 35 dias de nascidos obtidos e mantidos no biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA/UFPE. Os camundongos foram divididos em quatro grupos:

- Esquistossomóticos (ESF=10)
- Esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF=10)
- Esplenectomizados (EF=10).
- Controles (CF=10)

A infecção foi realizada via percutânea com 50 cercárias de *S. mansoni* (linhagem – São Lourenço da Mata) mantida pelo Laboratório de Imunologia e Esquistossomose

Experimental – LIKA/UFPE, através da passagem sucessiva em caramujos *Biomphalaria glabrata*.

No presente trabalho foi estabelecido que o estudo das amostras clínicas fosse de 14 semanas após infecção. Uma vez que a fase crônica da doença esquistossomótica murina é estabelecida a partir da 12ª semana do contato com as cercárias^{19,20}.

Esplenectomia

Após 125 dias de nascidos, metade dos camundongos parasitados e não parasitados foram submetidos à laparotomia mediana, com esplenectomia total convencional. Para isso foi realizada cirurgia aberta. Os camundongos foram anestesiados com solução cloridrato de xilazina 2% (10 mg/Kg) e cloridrato de cetamina 10% (115 mg/Kg), segundo Hall et al²¹.

Após anestesia geral, cada camundongo foi colocado em decúbito dorsal semilateral direito e utilizada incisão subcostal esquerda. Foi realizada tricotomia da região, seguindo-se da antissepsia com iodopovidona 1% e acesso à cavidade abdominal, realizou-se inspeção à procura de baço acessório e palpação para detectar aderência deste órgão, o que poderiam causar lacerações e sangramentos. Procedeu-se, então, com dissecação do ligamento gastroesplênico e ligadura dos vasos gástricos curtos. Localizou-se a artéria esplênica, com posterior reparo e ligadura, fazendo-se compressão do baço (autotransusão), que possibilitou retorno de grande parte do sangue à circulação sistêmica. O baço foi mobilizado medialmente, fazendo-se secção dos ligamentos. Os animais que foram a óbito durante a cirurgia foram excluídos do experimento e novos camundongos incluídos.

Realizou-se dissecação da veia esplênica, seguida de reparo e ligadura. Finalizou-se a cirurgia com dissecação do pedículo vascular, cuidadosamente para evitar lesões no pâncreas e exérese do órgão, seguida de nova inspeção da cavidade e síntese da parede abdominal. Os animais foram mantidos vivos após cirurgia e sete dias depois, todos os grupos foram eutanasiados para estudo.

Avaliação ponderal e parasitológica

A evolução do peso corporal dos animais foi registrado nos sete dias que se seguiram pós-esplenectomia. O peso foi medido em balança eletrônica (Marte, Mod. 1001, com capacidade para 1610g e sensibilidade até 0,1g). O registro dos pesos de cada animal foi realizado em protocolo individual.

Amostras individuais de fezes de cada animal foram empregadas para realização do exame parasitológico segundo método de Kato-Katz²². Uma primeira amostra foi coletada ao 45º dia após exposição cercariana para confirmação da infecção e quantificação de ovos por grama de fezes antes da esplenectomia. Uma segunda amostra foi coletada ao 97º dia após infecção (antes da eutanásia) para avaliar o padrão de ovoposição após esplenectomia. Após retirada das amostras biológicas, os vermes foram recuperados através da técnica de perfusão do sistema venoso porta e veias mesentéricas de acordo com a técnica de YOLLES et al²³. Ao final foi realizada contagem e classificação quanto ao sexo dos vermes.

Avaliação da translocação bacteriana em amostras teciduais

Decorrido sete dias pós-esplenectomia, os camundongos foram eutanasiados com *overdose* anestésica e submetidos a tricotomia na face ventral do abdome, com posterior assepsia corporal (iodopovidona 1%) para evitar contaminação das amostras e/ou tubo com a microbiota residente e transitória externa do camundongo.

Sangue periférico (0,5mL) foi coletado através de punção caudal em tubos de ensaio. Em seguida, realizou-se incisão mediana xifo pubiana para coleta de sangue porta (0,5 mL) utilizando agulha 13 x 4,5 acoplada à seringa descartável de 1 mL. Posteriormente, fragmentos de aproximadamente 0,03 g ($\pm 0,01$ g) de linfonodos mesentéricos e fígado foram coletados, macerados e homogeneizados individualmente em placas de Petri estéreis. Todas as amostras foram acrescidas de BHI (*Brain Heart Infusion*) (1:5) e incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24horas. Depois, semeadas em placas de Petri contendo meios de cultivo específicos para cada grupo bacteriano, gram-positivos e gram-negativos. A leitura das placas foi realizada após 24-72 horas de incubação. Com o crescimento nas placas de cultura, as espécies bacterianas foram identificadas por testes bioquímicos convencionais e confirmadas em equipamento automatizado (VITEK 2 System® BioMerieux, Durham, NC).

Avaliação da microbiota intestinal

Amostra de material entérico foi coletada diretamente da região média do intestino delgado de cada animal.

Para determinação do número de unidades de colônias por grama de fezes (UFC/g) utilizou-se método adotado por NAABER et al²⁴. Nos tubos contendo amostras fecais foi acrescentada solução salina estéril/NaCl 0,9% (1:10). Após homogeneização mecânica,

obteve-se diluição inicial 10^{-1} , seguida de diluições seriadas, até diluição de 10^{-6} . A partir das cinco diluições preparadas, foram inoculados 0,1 ml de cada na superfície de placas contendo meio cromogênico (Agar CPS ID®, BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Espalhou-se o inóculo com auxílio da alça de Drigalsky, e posteriormente, as placas foram incubadas invertidas a 37°C durante 24-48 horas. As bactérias foram identificadas de acordo com a morfologia colonial, microscópica e características bioquímicas. O cálculo do UFC foi dado pelo número de colônias detectado no meio de cultura x fator decimal de diluição das fezes x 10 (fator para expressar o resultado por grama de fezes, visto que o volume semeado em cada meio foi 0,1mL).

Análise morfométrica da mucosa duodenal

Fragmentos da porção média do intestino delgado de cada animal foram coletados em cortes sagitais, fixados em formaldeído a 10% tamponado em PBS e processados para inclusão em parafina. Em seguida, realizado cortes histológicos de 5µm de espessura e corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina. As variáveis consideradas no estudo morfométrico foram às medidas da altura e área das vilosidades, bem como a superfície total da área da mucosa (perímetro). Para esta análise, um examinador cego aos grupos, capturou imagens em cinco campos aleatórios (área total de campo = 12.234 µm², área total visualizada = 61.170µm²) das amostras histológicas de cada animal e analisou as mesmas com auxílio do software *Image J*. Os valores obtidos foram expressos em pixel (unidade de resolução de imagem).

Apresentação e análise dos dados

Foi utilizado teste de Friedman para verificar possíveis diferenças dos pesos dos camundongos em relação aos dias e aos diferentes grupos de avaliação. Para verificar diferença entre médias dos pesos dos camundongos nos diferentes dias de aferição em relação aos grupos em estudo, utilizamos teste de comparação múltiplo dois a dois. Foi utilizado teste de Kruskal-Wallis para verificar diferenças entre médias das áreas totais, das alturas das vilosidades e das áreas das vilosidades dos camundongos em relação aos diferentes grupos de avaliação. Para verificar diferença entre as médias das áreas totais, alturas das vilosidades e áreas das vilosidades, em relação aos grupos em estudo, utilizamos teste de comparação múltiplo dois a dois. Foi adotado nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Análise parasitológica

A média do total de vermes adultos recuperados dos camundongos esquistossomóticos não apresentou diferença significativa quando comparado aos esquistossomóticos esplenectomizados ($p>0,05$). Nestes grupos, a quantidade de vermes machos encontrada foi maior que a quantidade de vermes fêmeas ($p=0,0001$).

Nos animais esquistossomóticos esplenectomizados e esquistossomóticos não esplenectomizados, o número de ovos por g/fezes foi maior no 45º dia que no 97º dia da infecção ($p=0,005$, para ambos) (Tabela 1).

Análise do peso ponderal

Conforme Gráfico 1, na avaliação do peso dos camundongos observou-se aumento do peso do controle (CF) e esquistossomóticos (ESF) em relação aos dias de aferição ($p<0,0001$ e $<0,0300$, respectivamente). No grupo dos camundongos esplenectomizados (EF) e dos esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF) houve redução do aumento ponderal em relação aos dias de aferição ($p<0,0001$).

Na Tabela 2, quando comparamos os pesos dos camundongos durante os dias de aferição, observa-se que existe diferença da evolução ponderal em relação aos dias nos diferentes grupos ($p<0,0001$).

Tabela 1. Avaliação da carga parasitária de camundongos infectados pelo *S. mansoni*, esplenectomizados e não esplenectomizados.

Esquistossomóticos	Parâmetros Parasitológicos				
	Recuperação de vermes adultos			Número de ovos por g/fezes	
	Machos	Fêmeas	Total	45d	97d
Esplenectomizados (n=10)	12,0±3,36	7,6±1,34	19,6±4,70	189±4,8	138,5±7,3
Não esplenectomizados (n=10)	10,8±1,6	8,0±0,9	18,8±1,5	192,3±5,5	149,0±8,2

Nota: valores expressos em média ± desvio padrão.

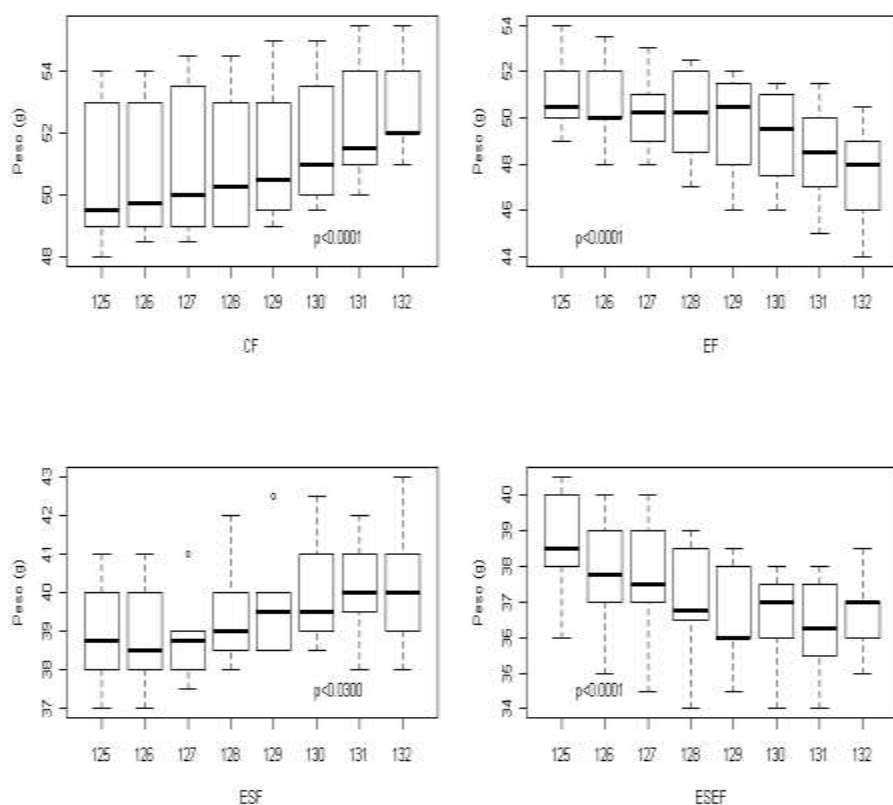


Gráfico 1. Boxplot da evolução ponderal dos camundongos em relação aos grupos CF, EF, ESF e ESEF e aos dias de aferição.

Tabela 2. Comparação dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição nos diferentes grupos em estudo.

DIAS	Grupos (Média±DP)				p-valor
	CF	EF	ESF	ESEF	
125	50,5±2,2	50,9±1,7	38,9±1,3	38,8±1,5	<0,0001*
126	50,7±2,2	50,5±1,7	38,9±1,4	37,8±1,5	<0,0001*
127	51,0±2,3	50,2±1,6	38,9±1,2	37,7±1,6	<0,0001*
128	51,1±2,2	50,1±1,8	39,3±1,2	37,0±1,5	<0,0001*
129	51,4±2,2	49,8±2,0	39,6±1,2	36,7±1,3	<0,0001*
130	51,9±1,9	49,1±1,9	39,9±1,3	36,6±1,3	<0,0001*
131	52,3±1,8	48,4±2,0	40,1±1,3	36,4±1,3	<0,0001*
132	52,8±1,5	47,8±2,0	40,3±1,5	36,8±1,1	<0,0001*

Nota: valores expressos em média ± desvio padrão. *estatisticamente significante

Na Tabela 3, observam-se todas as comparações múltiplas dois a dois dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição e aos grupos em estudo.

Tabela 3. Comparações múltiplas dos pesos dos camundongos em relação aos dias de aferição.

Grupos	Dias							
	125	126	127	128	129	130	131	132
CF X EF	0,4205	1,0000	0,4468	0,2872	0,2102	0,0197*	0,0001*	0,0001*
CF X ESF	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
CF X ESEF	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
EF X ESF	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
EF X ESEF	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
ESF X ESEF	0,8192	0,1063	0,0850	0,0042*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*

Nota: Valor de *p*. *estatisticamente significativa

Estudo da microbiota entérica

A Tabela 4 demonstra a análise quantitativa das amostras entéricas quanto à presença de bactérias nos grupos de estudo.

Em relação aos CF, todos os outros subgrupos apresentaram aumento de no mínimo 1000 UFC.

Observamos aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos os grupos ESF e ESEF, com diferença apenas para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela 4. Distribuição das bactérias por UFC ($\log_{10}$ /g de fezes) isoladas de amostras entéricas dos grupos de estudo.

Isolados bacterianos UFC ($\log_{10}$)/g	Grupos experimentais			
	ESEF	ESF	EF	CF
<i>Proteus mirabilis</i>	10^6	10^6	10^5	10^4
<i>Staphylococcus coag neg</i>	10^4	10^4	10^5	10^3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^8	10^7	10^6	10^4
<i>Enterococcus faecalis</i>	10^9	10^9	10^8	10^7
<i>Staphylococcus aureus</i>	10^8	10^7	10^6	10^4
<i>Escherichia coli</i>	10^9	10^9	10^7	10^5

Nota: Os resultados da contagem foram expressos em logaritmo decimal do número de unidades formadoras de colônias por grama de fezes.

Análise histomorfométrica do duodeno

O aspecto macroscópico do intestino dos camundongos esquistossomóticos foi indicativo de quadro de hipertrofia, fibrose nas alças intestinais e aumento no calibre e intensa rigidez tecidual. Em camundongos esquistossomóticos, na histopatologia da lâmina própria e submucosa, foram visualizados granulomas esquistossomóticos, predominantemente do tipo produtivo com evolução para cicatrização fibrótica. Além disso, os granulomas estavam distribuídos isoladamente ou em coalescência, compostos por macrófagos e linfócitos dispostos em proximidade ao ovo ou vestígio do ovo central, além de escassos eosinófilos, resultando em deslocamento das vilosidades no espaço intraluminal. Estes achados histopatológicos foram escolhidos como critério de exclusão nas análises morfométricas, pois poderiam resultar em aumento aparente da altura e de área das vilosidades. Aspectos dentro dos padrões de normalidades anatômicas e histológicas foram visualizados no grupo controle.

Na avaliação das áreas totais os camundongos controles não esplenectomizados (CF) apresentaram média de $532,0 \pm 102,9$, os esplenectomizados (EF) de $509,3 \pm 79,4$, os esquistossomóticos (ESF) de $238,2 \pm 88,8$ e os esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF) de $217,3 \pm 68,1$. Desta forma, existe diferença na média das áreas totais dos camundongos em relação aos diferentes grupos ($p < 0,0001$) (Figura 1).

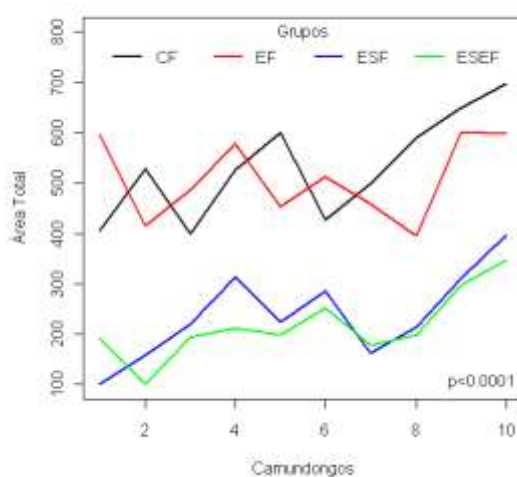


Figura 1. Área total dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.

Os camundongos do grupo controle (CF) apresentaram média das alturas das vilosidades de $123,3 \pm 12,2$, os esplenectomizados (EF) de $112,4 \pm 5,3$, os esquistossomóticos (ESF) de $93,9 \pm 7,9$ e os esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF)

de $90,1 \pm 8,4$. Existe diferença na média das alturas das vilosidades em relação aos diferentes grupos em estudo ($p < 0,0001$) (Figura 2).

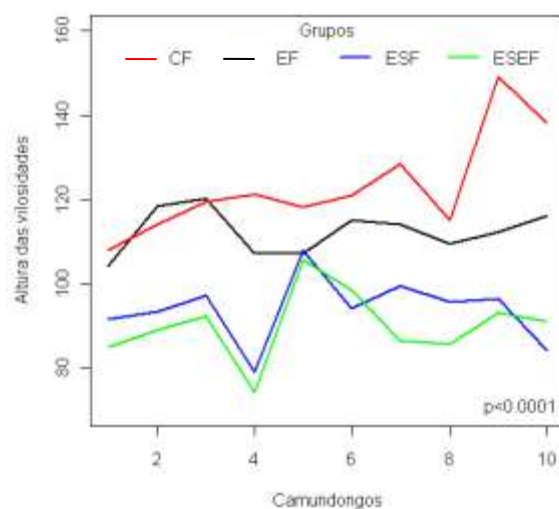


Figura 2. Altura das vilosidades dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.

A média das áreas das vilosidades dos camundongos do grupo controle (CF) foi de $3,4 \pm 0,1$, dos esplenectomizados (EF) de $3 \pm 0,1$, dos esquistossomóticos (ESF) de $2,4 \pm 0,2$ e dos esquistossomóticos esplenectomizados (ESEF) de $2,3 \pm 0,1$, existe diferença na média das áreas das vilosidades em relação aos diferentes grupos de avaliação ($p < 0,0001$) (Figuras 3).

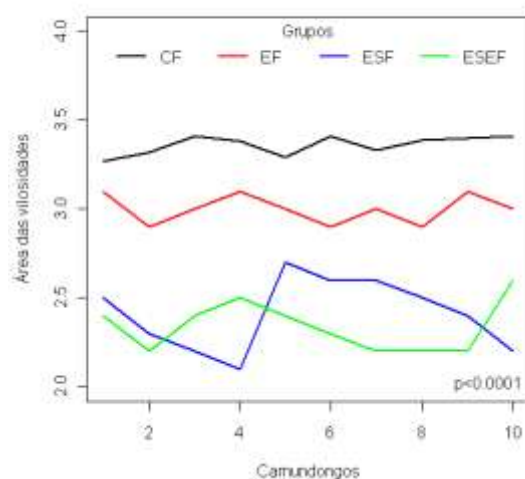


Figura 3. Área das vilosidades dos camundongos em relação aos grupos de avaliação.

Na Tabela 5, observam-se todas as comparações múltiplas dois a dois das áreas totais, das alturas e das áreas das vilosidades dos camundongos em relação aos grupos em estudo.

Tabela 5. Comparações múltiplas dois a dois das áreas totais, das alturas e áreas das vilosidades em relação aos grupos de avaliações.

Grupos	Área total	Alturas das vilosidades	Área das vilosidades
CF X EF	0,6305	0,0185*	<0,0001*
CF X ESF	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
CF X ESEF	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
EF X ESF	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
EF X ESEF	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
ESF X ESEF	0,4960	0,2176	0,4177

Nota: Valor de *p*. *estatisticamente significante

Estudo da translocação bacteriana

Houve translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos nos quatro grupos experimentais, sendo mais prevalente em animais esquistossomóticos esplenectomizados. No grupo controle, as bactérias isoladas foram gram-negativas, *Escherichia coli*. Na translocação para sangue porta, fígado e sangue periférico, apenas animais controles não apresentaram bactérias nas amostras teciduais.

Nas culturas de linfonodos mesentéricos, camundongos apenas esquistossomóticos apresentaram positividade bacteriana em 100% das amostras, isolando-se *Staphylococcus aureus* (6), *E. coli* (2), *S. aureus* associado à *Enterococcus faecalis* (1) e *E. faecalis* (1); em sangue porta, 60% dos camundongos apresentaram positividade, *S. aureus* (4) e *E. coli* (2). Em fígado observamos translocação em 50% das amostras, *S. aureus* (5), e sangue periférico em 30%, *S. aureus* (3).

Nas culturas de linfonodos mesentéricos, camundongos apenas esplenectomizados apresentaram positividade bacteriana em 100% das amostras, isolando-se *E. coli* (3), *Proteus mirabilis* (2), *E. faecalis* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *S. aureus* (1), *E. faecalis* associada a *Staphylococcus coagulase negativa* (1) e *S. aureus* associado a *E. faecalis* (1); em sangue porta, 70% dos camundongos apresentaram positividade, *E. coli* (2), *Proteus mirabilis* (2), *S. aureus* (2) e *E. faecalis* (1). Em fígado observamos translocação em 50% das amostras, *E. coli* (2), *S. aureus* (2) e *E. faecalis* (1); e em sangue periférico em 20%, *E. faecalis* (1) e *S. aureus* (1).

Nas culturas de linfonodos mesentéricos, camundongos esquistossomóticos e esplenectomizados apresentaram positividade bacteriana em 100% das amostras, isolando-se *S. aureus* associado a *E. faecalis* (2), *E. coli* associada a *S. coagulase negativa* (1), *S. coagulase negativa* associado a *P. mirabillis* (1), *Pseudomonas aeruginosa* associado a *Providencia retigeri* (1), *E. faecalis* associado a *S. aureus* e *P. mirabillis* (1), *E. faecalis* associada a *E. coli* (1), *E. faecalis* (1), *K. pneumoniae* (1) e *S. aureus* (1); em sangue porta, 100% dos camundongos apresentaram positividade, *S. aureus* (3), *E. coli* (2), *E. faecalis* (1), *K. pneumoniae* (1), *Providencia retigeri* (1), *S. coagulase negativa* associado a *P. mirabillis* (1) e *S. aureus* associado a *P. mirabillis* (1). Em fígado observamos translocação em 90% das amostras, *S. aureus* (4), *E. coli* (2), *K. pneumoniae* (1), *Providencia retigeri* (1), *S. coagulase negativa* associado a *P. mirabillis* (1); e em sangue periférico em 60%, *S. aureus* (3), *E. coli* (1), *K. pneumoniae* (1) e *S. coagulase negativa* associado a *P. mirabillis* (1).

Não houve crescimento bacteriano nos meios específicos para micro-organismos anaeróbios e fungos.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a quantidade de vermes adultos recuperado no sistema venoso portal e veias mesentéricas dos camundongos esquistossomóticos foram aproximadamente igual aos observados nos esquistossomóticos esplenectomizados. Nos dois grupos, a quantidade de vermes machos foi maior que a quantidade de vermes fêmeas. Estes dados concordam com os de Boissier et al²⁵ que relataram que em hospedeiros permissivos, distintos genótipos do parasito poderiam se desenvolver induzindo a acentuada competição entre as fêmeas e como consequência, aumento na quantidade de machos. Entretanto, Martinez et al²⁶ observaram proporção semelhante entre vermes machos e fêmeas recuperados após infecção pelas diferentes cepas brasileiras. Podemos observar que a esplenectomia não alterou a recuperação dos vermes, como também, a relação vermes machos e fêmeas observadas na esquistossomose.

Na doença provocada pelo *Schistosoma mansoni*, já foi descrito que o padrão de eliminação dos ovos se inicia com baixa oviposição, havendo aumento no número de ovos eliminados entre 45 e 72 dias e redução progressiva, cerca de três semanas após o período pré-patente²⁶⁻²⁸. Neste trabalho, tanto em animais esquistossomóticos esplenectomizados,

quanto em esquistossomóticos não esplenectomizados, o número de ovos por g/fezes foi maior no 45º dia que no 97º dia da infecção.

Todos os grupos, aqui analisados, comparados ao controle, apresentaram redução da evolução do peso corporal. Assim, constatamos que a esquistossomose crônica e o período inicial da pós-esplenectomia favorece a redução do ganho de peso, tornando-a ainda mais evidente na esquistossomose associada à esplenectomia. Em qualquer relação hospedeiro/parasito, o parasitismo, para assegurar seu desenvolvimento e sobrevivência, em alguma fase retirará sua energia e nutrientes, direta ou indiretamente, do alimento, metabólitos e tecido do hospedeiro²⁹. Entretanto, a redução da evolução corporal na esplenectomia pode ser influenciada pela debilidade do animal no pós-cirúrgico, caracterizada pela dificuldade de se alimentar. Este fator prejudicou ainda mais o estado nutricional e a resposta imunológica no grupo esquistossomótico esplenectomizado.

Algumas das funções da microbiota intestinal têm considerável importância para o hospedeiro. Elas incluem a resistência à colonização, a modulação do sistema imune e participação na nutrição do hospedeiro³⁰. O trato digestório tem assumido maior importância no manuseio e tratamento do paciente séptico. Há bem pouco tempo, este sistema era considerado de pouca importância na fisiopatologia da sepse. Acredita-se que o intestino delgado e o colón estão envolvidos na manutenção do hipermetabolismo da sepse, síndrome da resposta inflamatória sistêmica e disfunção de múltiplos órgãos e sistemas³¹. De forma geral, os micro-organismos da microbiota residente normal são inócuos e benéficos na sua localização normal no hospedeiro e na ausência de anormalidades concomitantes. Por outro lado, os próprios membros da microbiota normal podem provocar doença em certas circunstâncias. Estes micro-organismos estão adaptados ao modo de vida não-invasivo, definido pelas limitações do meio ambiente. Se forem introduzidos na corrente sanguínea ou em tecidos, esses agentes podem tornar-se patogênicos^{32,33}.

De acordo com os nossos dados, a análise da quantidade de bactérias, por UFC/g de fezes, originadas da região média do intestino delgado demonstram que, tanto a esquistossomose crônica, quanto a esplenectomia modificam a microbiota dos camundongos. O rompimento do equilíbrio da microbiota indígena contribui para o excessivo crescimento de determinadas bactérias, tornando fator para o processo de translocação^{34,35}. Na esquistossomose as alterações na microbiota intestinal poderiam ser explicadas pela imunomodulação, hipotrofia das vilosidades ou estado nutricional. Já na

esplenectomia, além do estado nutricional observado logo no pós-cirúrgico, a hipertrofia das vilosidades poderia estar implicada neste processo.

A forma hepatoesplênica da esquistossomose é caracterizada por fibrose hepática e hipertensão portal, que, por propagação para os ramos terminais intestinal, podem levar a alterações na arquitetura da mucosa intestinal, como redução da altura das vilosidades³⁶, de acordo com o que ocorreu no grupo esquistossomótico do presente estudo. Entretanto, também observamos alterações das alturas e áreas das vilosidades em camundongos esplenectomizados. Não encontramos na literatura estudos que expliquem alterações na mucosa intestinal pós-esplenectomia. É importante destacar que as consequências da ausência do baço sobre os órgãos e sítios linfóides têm sido pouco avaliadas. Sabe-se que a retirada do baço afeta a função imune de maneira sistêmica e ao mesmo tempo distinta nos diferentes compartimentos do organismo¹². Porém, o indivíduo esplenectomizado, mesmo que com limitações e maiores riscos de infecções, sobrevive. No presente estudo, não encontramos alterações em relação a morfometria da mucosa duodenal entre os esquistossomóticos e os esquistossomóticos esplenectomizados.

Várias pesquisas utilizando animais têm demonstrado que translocação é fenômeno multifatorial, que pode ser resultado do rompimento do equilíbrio normal da microbiota indígena, que contribui para excessivo crescimento de determinadas bactérias. O sistema imunológico do hospedeiro debilitado ou a ruptura física da barreira intestinal também podem, isoladamente ou em associação, facilitar a passagem de bactéria via intestino^{34,35,37}.

Para avaliar a translocação bacteriana, são utilizados métodos de cultura de diferentes sítios extra-intestinais. Os métodos mais comumente usados na literatura são cultura de homogeneizado de linfonodos mesentéricos, fígado e baço, cultura de sangue venoso da veia porta e sangue venoso periférico e detecção de endotoxinas no sangue venoso portal e periférico^{34,38,39}. No presente trabalho, houve translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos no grupo controle, contudo a bactéria não atingiu outros órgãos permanecendo restrita aos nódulos dos linfonodos mesentéricos. A translocação bacteriana ocorre espontaneamente em indivíduos saudáveis e acredita-se que seja evento fisiológico e necessário para a geração de células imunocompetentes pelo tecido linfóide associado à mucosa digestória (GALT)^{35,40,41}.

Nos dados aqui apresentados, os camundongos esplenectomizados apresentaram translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, sangue porta, fígado e sangue periférico, 20% dos animais fizeram sepse. Este número poderia ser maior se

ultrapassássemos o período de eutanásia para mais de sete dias. Observamos também, dois tipos distintos de gêneros de bactérias nos linfonodos mesentéricos, e infecção principalmente por gram-positivos. Os camundongos esplenectomizados não conseguem montar respostas adequadas aos diversos antígenos bacterianos⁴².

O baço tem maior capacidade que o fígado, por grama de tecido, para a fagocitose de micro-organismos. Em pacientes sem baço, a porção não esplênica do sistema mononuclear fagocitário compensa sua ausência, mas a formação de anticorpos é menos eficiente. Nessas situações, diminui a função da IgG e reduz a quantidade de IgM^{43,44}.

Os camundongos apresentam infecção por *Schistosoma mansoni* mais grave que as habitualmente observadas em humanos, entretanto é considerado bom modelo experimental para esta helmintose⁴⁵. No presente trabalho, 30% dos camundongos esplenectomizados apresentaram translocação bacteriana para linfonodos mesentéricos, sangue porta, fígado e sangue periférico, com quadro de sepse. Este fato pode ter sido devido ao conjunto de alterações ocorridas no organismo do camundongo devido à infecção crônica, como alteração da microbiota, das vilosidades intestinais e imunológicas. Estes dados concordam com alguns estudos, onde foram discutidos a translocação devida imunodeficiência e alterações nas vilosidades provocadas pelo *S. mansoni* no hospedeiro vertebrado^{8,36}.

Observamos que os camundongos esquistossomóticos e esplenectomizados, apesar de não mostrarem diferenças na área total, área das vilosidades e altura das vilosidades, microbiota intestinal, número de vermes e de ovos com 45º e 97º dias da infecção, apresentaram maior taxa de translocação bacteriana que os camundongos apenas esquistossomóticos. Isso pode ser devido a ausência do baço e ao e diminuição do ganho ponderal do esquistossomótico potencializado na pós-esplenectomia. Além disso, observamos coinfeções por diferentes grupos bacterianos, principalmente gram-negativos.

Em conclusão, apesar de alguns estudos demonstrarem que a esquistossomose associada à esplenectomia não parece favorecer a presença de quadros sépticos^{12,14}. Nós observamos que em camundongos esquistossomóticos e pós-esplenectomizados a translocação bacteriana para o sangue periférico ocorre de forma mais acentuada do que na esplenectomia e esquistossomose isolada. E este fato pode está associado a respostas imunológicas ainda mais deficientes pela ausência do baço e a redução nutricional potencializada por ambas intercorrências. Outros estudos devem ser realizados, com

ênfoque na translocação bacteriana na esquistossomose associada a esplenectomia, para confirmar e ampliar os resultados encontrados.

CONFLITO DE INTERESSES

Não há conflito de interesses

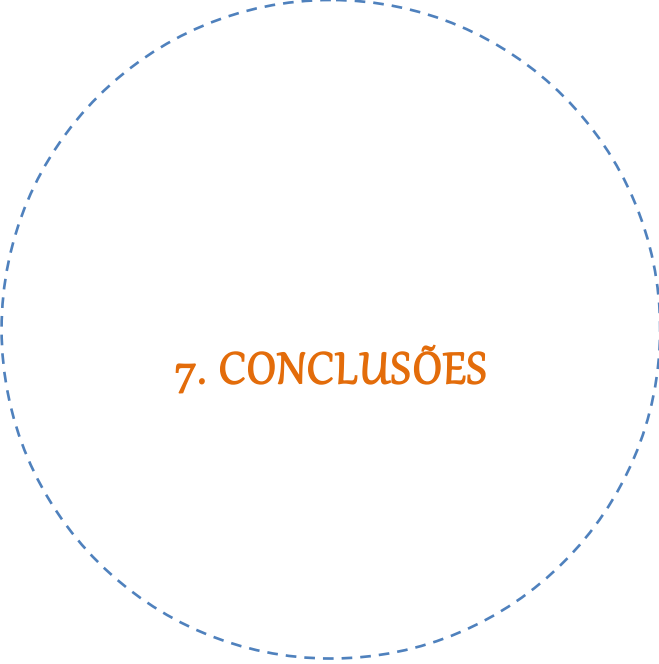
REFERÊNCIAS

1. Berg, A.D.; Garlington, A.W. (1979). Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and the other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect. Immun.* 23, 403-11.
2. Wiest, R.; Rath, H. C. (2003). Bacterial translocation in the gut. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 17, 397-425.
3. Wells, R.A.; Hummel, J.L.; De Koven, A.; Zipursky, A.; Kirby, M.; Dubé, I.; Kamel-Reid, S. (1996). A new variant translocation in acute promyelocytic leukaemia: molecular characterization and clinical correlation. *Leukemia* 10, 735-740.
4. Araújo, F.G.; Coelho, P.M.Z.; Pereira, L.H.; Pellegrino, J. (1977). *Schistosoma mansoni*: impairment of the cell-mediated immune response in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 28, 289-291.
5. Ferraz, A.A.B.; Santos Junior, M.A.; Mathias, C.A.; Magalhães M.; Barcelar T.; Ferraz E.M. (1993). Modelo de peritonite experimental em camundongos esquistossomóticos. *Acta Cir. Bras.* 8, 28-31.
6. Elias, D.; Akuffo, H.; Thors, C.; Pawlowski, A.; Britton S. (2005). Low dose chronic *Schistosoma mansoni* infection increases susceptibility to *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 139, 398-404.
7. Katz, N.; Almeida, K. (2003). Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Cienc. Cult.* 55, 38-43.
8. Ferraz, A.A.B.; Campos, J.M.; Araújo Júnior, J.G.C.; Albuquerque, A.C.; Ferraz, E.M. (2005). Gut Bacterial Translocation and Postoperative Infections: A prospective study in schistosomal patients. *Surg. Infect.* 6, 197-201.
9. Curiel, M.; Chaves, J.; Torrealba, J.W. (1974). Immunoglobulin levels in schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. Trop.* 14, 384-7.
10. Camus, D.; Carlier, Y.; Capron, M.; Bina, J.C.; Figueiredo, J.F.M.; Prata, A.; Capron, A. (1977). Immunological studies in human schistosomiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26, 482-90.
11. Guerra, L.C.M.; Neto, J.E.; Miranda, P.J.C.; Silveira, M.J.C.; Brandt, C.T.; Kelner, S. (1991). Variações dos valores séricos de IgG, IgA, IgM, C3 e C4 após esplenectomia em esquistossomóticos hepato-esplênicos. *Acta. Cir. Bras.* 6, 123-6.
12. Petroianu, A.; Antunes, L.J. (2003). Aspectos imunológicos da esquistossomose mansoni hepatoesplênica após cirurgia terapêutica. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 25(3), 149-154.

13. Petroianu, A. (2003). Subtotal splenectomy for treatment of retarded growth and sexual development associated with splenomegaly. *Minerva Chir.* 57(3), 413-4.
14. Resende, V.; Petroianu, A.; Junior, W.C.T. (2002). Autotransplantation for treatment of severe splenic lesions. *Emerg. Radiol.* 9, 208-12.
15. Butterworth, A.; Dunne, D.; Fulford, A.; Capron, M.; Khalife, J.; Capron, A.; Koech, D.; Ouma, J.; Sturrock, R. (1988). Immunity in human schistosomiasis mansoni: cross-reactive IgM and IgG2 anticarbohydrate antibodies block the expression of immunity. *Biochimie.* 70(8), 1053-63.
16. Dunne, D.W.; Fulford, A.J.C.; Butterworth, A.E.; Koech, D.; Ouma, J.H. (1987). Human antibody responses to *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 82, 101-4.
17. Schumacher, M.J. (1970) Serum immunoglobulin and transferrin levels after childhood splenectomy. *Arch. Dis. Child.* 45, 114-7.
18. Nishioka, A.S.; Ferreira, M.S.; Burgarelli, M.K.N. (1992) *Serratia marcescens* bacteremia associated with schistosomiasis mansoni. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 25, 191-193.
19. Fallon, P.G. (2000) Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. *Immunol. Today.* 21, 29-35.
20. Pearce, E.J.; Macdonald, A.S. (2002). The immunobiology of schistosomiasis. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 499-511.
21. Hall, L.W.; Clarke, K.W. (2001). Veterinary Anesthesia. 8.ed. London, *Baillière Tindal*, 452p.
22. Katz, N.; Chaves, A.; Pellegrino, J. (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 14(6), 397-400.
23. Yolles, T.K.; Moore, D.V.; De Giusti, D.L.; Ripson, C.A.; Meleney, H.E. (1947). A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.* 33, 419-26.
24. Naaber, P.; Mikelsaar, R.H.; Salminen, S.; Mikelsaar M. (1998). Bacterial translocation, intestinal microflora and morphological changes of intestinal mucosa in experimental models of *Clostridium difficile* infection. *J. Med. Microbiol.* 47, 591-598.
25. Boissier, J.; Morand, S.; Moné, H. (1999) A review of performance and pathogenicity of male and female *Schistosoma mansoni* during the life-cycle. *Parasitology.* 119, 447-454.
26. Martinez, E.M.; Neves, R.H.; Oliveira, R.M.F.; Machado-Silva, J.R.; Rey, L. (2003). Características biológicas e morfológicas de cepas brasileiras de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36, 557-564.
27. Barth LR, Fernandes APM, Rodrigues V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during in vitro cultivation. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 1996; 38: 423-426.
28. El-Ridi R, Ozaki T, Inaba T, Ito M, Kamiya M. *Schistosoma mansoni* oviposition in vitro reflects worm fecundity in vivo: individual-, parasite age- and host-dependent variations. *Int. J. Parasitol.* 1997; 27: 381-387.
29. Carvalho, O.S.; Coelho, P.M.Z.; Lenzi, H.L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2008.

30. Mcfarland, L.V. (2000). Normal flora: diversity and functions. *Microb. Ecol. Health Dis.* 12, 193-207.
31. Deitch, E.A.; Kemper, A.C.; Specian, R.D.; Berg, R.D. (1992). A study of the relationships between bacterial translocation, gut origin sepsis and survival in a model of systemic inflammation. *J. Trauma.* 32, 141-147.
32. Gorbach, S.L.; Simon, G.L. Intestinal flora and digestório function (1987). *Phys. Gastroint. Tract*, New York: Raven Press, 2 ed., 1729-1747.
33. Barbosa F.H.F.; Martins F.S.; Barbosa L.P.J.L.; Nicoli J.R. (2010). Microbiota indígena do trato digestório. *Rev. Biol. Ciênc da Terra.* 10, 78-93.
34. Gencay, C.; Kilicoglu, S.S.; Kismet, K.; Kilicoglu, B.; Erel, S.; Muratoglu, S.; Sunay, A.E.; Erdemli, E.; Akkus, M.A. (2008). Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol.* 14(21), 3410-5.
35. Zaroni, F.L.; Benabou, S.; Greco, K.V.; Moreno, A.C.R.; Cruz, J.W.M.C.; Filgueira, F.P.; Martinez, M.B.; Figueiredo, L.F.P.; Silva, M.R.; Sannomiya, P. (2009). Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. *Clinics.* 64, 911-919.
36. Siqueira, L.T.; Ferraz, A.A.; Campos, J.M.; Lima Filho, J.L.; Albuquerque, M.C.; Lima Aires, A.; Ribeiro, M.H.; Cavalcanti, M.T.; Lima, B.; Cavalcanti, C.; Ferraz, E.M. (2010). Analysis of plasma citrulline and intestinal morphometry in mice with hepatosplenic schistosomiasis. *Surg. Infec.* 11, 1-8.
37. Nikitenko, V.I.; Stadnikov, A.A.; Kopylov, V.A. (2011). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. *J. Wound Care.* 20(3), 114-22.
38. Çelik, A.; Aydemir, S.; Alkanat, M.; Habif, S.; Keskinoglu, A.; Erdener, D. (2005). Hemorrhagic shock and bacterial translocation. *J. Appl. Res.* 5 (1), 196-205.
39. Silva, R.M.; Buzzutti, F.I.; Siliano, P.R.; Menchaca-Diaz, J.L.; Siqueira, A.F.R.S.; Koh, I.H.J. (2002). Bacterial translocation is dependent on bacterial plasmid-borne genetic determinants. *Transplant. Proc.* 34, 999-1000.
40. MacFie, J. (2000). Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutrition.* 16, 606-11.
41. Lichtman, S.M. (2001). Bacterial translocation in Humans. *JPGN.* 33(1), 1-10.
42. Amlot, P.L.; Hayes, A.E. (1985). Impaired human antibody response to the thymus-independent antigen, DNP-Ficoll, after splenectomy. Implications for post-splenectomy infections. *Lancet* 4, 1(8436), 1008-11.
43. Cooney, D.R.; Dearth, J.C.; Swanson, S.E.; Dewanjee, M.K.; Telander, R.L. (1979). Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation, and immunization in preventing postsplenectomy infection. *Surgery.* 86, 561-9.
44. Cunha, B.A. (1998). Infection in nonleukopenic compromised hosts (diabetes mellitus, sle, steroids, and asplenia) in critical care. *Infect. Crit. Care.* 14, 263-82.

45. Warren, K.S. (1966). The pathogenesis of "clay-pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schistosomes. *Am. J. Pathol.* 49, 477-89.



7. CONCLUSÕES

*“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão que sentar-se, fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder.
Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade viver.”*

Martin Luther King

7. CONCLUSÕES

❖ *Em relação a comparação entre os camundongos esquistossomóticos na fase crônica e camundongos sem infecção, machos e fêmeas:*

- Do período entre a infecção e a eutanásia, ocorreu diminuição da evolução ponderal das fêmeas e machos esquistossomóticos quando comparados com os respectivos controles.
- Camundongos esquistossomóticos apresentaram maior prevalência de coproculturas positivas, tanto com relação à densidade bacteriana por espécies quanto ao número de UFC. Observamos aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos os subgrupos machos e fêmeas.
- A análise morfométrica duodenal revelou redução no perímetro da superfície da mucosa (área total), altura das vilosidades e área das vilosidades de ambos os grupos parasitados com *S. mansoni*, quando comparados aos respectivos controles.
- Houve translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos nos dois grupos experimentais, controle e esquistossomóticos, sendo mais prevalente em animais esquistossomóticos. Na translocação para sangue porta, fígado, baço e sangue periférico, apenas animais parasitados apresentaram bactérias nestas amostras teciduais, sendo mais assinalado nas fêmeas.

❖ *Em relação a comparação entre camundongos esplenectomizados e camundongos não esplenectomizados, machos e fêmeas:*

- Camundongos esplenectomizados machos e fêmeas apresentaram redução da evolução ponderal, do 125º (antes da esplenectomia) ao 132º dia de nascidos (antes da eutanásia). Os camundongos machos esplenectomizados apresentaram a mesma redução do peso ponderal nos sete dias de avaliação pós-cirúrgica, quando comparados com a redução do peso dos camundongos fêmeas esplenectomizados.
- Camundongos esplenectomizados apresentaram maior variação nas coproculturas, tanto com relação à densidade bacteriana por espécies,

quanto ao número de UFC. Observou-se aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos os subgrupos machos e fêmeas, de ambos os grupos esplenectomizados e controle.

- A análise morfométrica duodenal revelou redução na altura e área das vilosidades dos machos e fêmeas esplenectomizados, quando comparado aos respectivos controles. Entretanto, não houve diferença na média da área total entre machos e fêmeas esplenectomizados.
- Os camundongos controles e esplenectomizados, machos e fêmeas, apresentaram translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos. Entretanto, a prevalência foi maior nos camundongos esplenectomizados. Com relação à translocação para sangue porta, fígado e sangue periférico, apenas animais esplenectomizados apresentaram bactérias nestas amostras teciduais, sendo mais prevalente em machos. Em alguns casos, na microbiota intestinal de camundongos esplenectomizados, as bactérias que se sobressaíam as demais, foram responsáveis pela translocação para os linfonodos mesentéricos, sangue porta, fígado e sangue periférico.

❖ *Em relação a comparação entre camundongos esquistossomóticos esplenectomizados e não esplenectomizados:*

- Nos esquistossomóticos esplenectomizados houve maior redução do peso em relação aos dias de aferição que nos camundongos esquistossomóticos.
- Observamos aproximadamente as mesmas quantidades de colônias quando comparamos os grupos esquistossomóticos e esquistossomóticos esplenectomizados, com diferença apenas para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*.
- Não observamos alterações significantes na área total, altura e área das vilosidades entre os animais esquistossomóticos e esquistossomóticos esplenectomizados.
- Houve maior prevalência de translocação bacteriana e sepse em animais esquistossomóticos esplenectomizados. Além disso, observamos coinfeções por diferentes gêneros de bactérias, como gram-negativos associados a gram-positivos.



8. COMENTÁRIOS & PERSPECTIVAS

"Não chores porque já terminou, sorri porque aconteceu."

Gabriel José García Márquez

8. COMENTÁRIOS E PERSPECTIVAS

Os resultados apresentados nesta tese mostraram a importância de se estudar as causas das infecções secundárias na fase crônica da esquistossomose, na pós-esplenectomia e na esquistossomose crônica pós-esplenectomia. Apesar dos métodos de cultura serem amplamente utilizados na literatura, o isolamento de micro-organismos entéricos em sítios extra-intestinais sugere fortemente, mas não prova a translocação bacteriana. Numerosos trabalhos estão sendo realizados com o objetivo de avaliar qual a exata alteração que ocorre na barreira intestinal na presença de uma doença do trato digestório. A alteração patológica mais frequentemente aventada como causa do defeito na barreira intestinal é a atrofia da mucosa. Entretanto, muitos estudos vem tentando demonstrar a influência de outros fatores, que não a atrofia da mucosa, como causa da translocação bacteriana. Através do modelo experimental de esquistossomose e esplenectomia, os dados gerados nos permitiram avaliar a translocação bacteriana como causa de infecção bacteriana, devido a um conjunto de fatores, como desequilíbrio da microbiota intestinal, sexo e alteração da mucosa duodenal. Os dados sugeriram que a sepse fulminante em esplenectomizados e os abscessos hepáticos, comuns na esquistossomose crônica, podem ser devidos aos próprios componentes da microbiota indígena do trato digestório.

De acordo com as informações aqui obtidas, o sexo pode influenciar na presença da translocação bacteriana. Nos camundongos *Mus musculus* esquistossomóticos, a translocação parece acometer mais as fêmeas. Entretanto, nesta espécie submetida apenas a esplenectomia, a translocação parece acometer de forma mais intensa os machos. Sabe-se que ocorre redução da evolução poderal nas doenças crônicas, e esse fato associado a outros causados pela esquistossomose hepatoesplênica, como alterações estruturais da mucosa intestinal, pode favorecer ainda mais a translocação bacteriana e consequentemente, sepse.

Um dos eventos interessantes observados na presente pesquisa, foi em relação a morfometria duodenal de camundongos esplenectomizados. A redução da área e altura das vilosidades após sete dias da esplenectomia ainda não havia sido notada no meio científico. Alguns fenômenos poderiam explicar este episódio, como redução do peso corporal pós-esplenectomia, alteração da resposta imunológica e/ou o próprio desequilíbrio da microbiota intestinal causado pela retirada do baço.

Desta forma, as informações geradas neste trabalho permitem ampliar nossas perspectivas para estudos futuros, utilizando o mesmo modelo animal para investigar as respostas hormonais, as respostas imunológicas e avaliações nutricionais, aliadas a aspectos laboratoriais, na tentativa de explicar as alterações orgânicas que contribuem para translocação bacteriana na esquistossomose e esplenectomia. Uma das abordagens futuras seria avaliar a translocação microbiana em camundongos esquistossomóticos nutridos e desnutridos, observando as alterações da microbiota e morfometria intestinal, inclusive comparando a região duodenal com a região do colón proximal, tanto em fêmeas como em machos. Uma outra abordagem, consiste em continuar a utilização de animais esplenectomizados para o estudo da translocação bacteriana, entretanto, aumentando o período das observações aqui realizadas, isto é, em um período maior que sete dias.

Outra linha proposta por esta pesquisa é no sentido de estabelecer relação entre os dados aqui levantados com os da resposta imunológica, observando se os níveis de IFN- γ e IL-10 nas células esplênicas dos camundongos na fase crônica da infecção está relacionada com a translocação microbiana. Também, se em camundongos esquistossomóticos submetidos à esplenectomia ocorre aumento do imunocomprometimento, favorecendo a sepse por agentes da microbiota intestinal. Assim, este estudo tem como principal característica o fato de ser uma avaliação inédita, e nossos dados preliminares poderão formar base para vários outros trabalhos nesta linha de pesquisa.



9. REFERÊNCIAS

"Vinde a Mim, todos os que estais cansados e oprimidos, e Eu vos aliviarei. Tomai sobre vós o Meu jugo e aprendei de Mim, que Sou manso e humilde de coração; e encontrareis descanso para as vossas almas. Porque o Meu jugo é suave e o Meu fardo é leve."

Jesus Cristo

9. REFERÊNCIAS

- ABBAS AK, LICHTMAN AH. **Imunologia Celular e Molecular**, 5º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- ALBERTI LR, ROCHA RF, CALDEIRA DAM, PETROIANU A. Análise de sobrevivência relacionada ao sexo, após esplenectomia, em modelo animal. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.29, p.119-122, 2007.
- ALEXANDER JW, BOYCE ST, BABCOCK GF. The process of microbial translocation. **Annals of Surgery**, v. 212, p. 496-510, 1990.
- AMADORI A, ZAMARCHI R, DE SILVESTRO G, FORZA G, CAVATTON G, DANIELI G.A. *et al.* Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans. **Nature Medicine**, v.1, p.1279-83, 1995.
- ARAÚJO KCGM, ROSA-SILVA C, BARBOSA CS, FERRARI TCA. Clinical-epidemiological profile of children with schistosomal myeloradiculopathy attended at the Instituto Materno-Infantil de Pernambuco. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p.149-156, 2006.
- ARAÚJO MI. Imunorregulação na Esquistossomose mansôni Humana. **Apresentada a Instituto Oswaldo Cruz para obtenção do grau de Doutor**. Rio de Janeiro, 1997.
- ARLT W, HEWISON M. Hormones and immune function: implications of aging. **Aging Cell**, v. 3, p.209-16, 2004.
- BARBOSA CS, ARAUJO K, FAVRE TC, PIERI OS. Spacial distribution of schistosomiasis foci in Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. **Memórias do Insituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p.79-83, 2004.
- BARBOSA CS, FAVRE TC, WANDERLEY TN, CALLOU AC, PIERI OS. Assessment of schistosomiasis, through school surveys, in the Forest Zone of Pernambuco, Brazil. **Memórias do Insituto Oswaldo Cruz**, v.101, p.55-62, 2006.
- BARBOSA CS, PIERI OS. Aspectos epidemiológicos e malacológicos da esquistossomose mansonica na Ilha de Itamaracá, PE. **Revista Saúde Pública**, v.34, p.33-41, 2000.
- BARBOSA CSCG, DOMINGUES ALC, ABATH FGC, MONTENEGRO SML, GUIDA U, CARNEIRO J *et al.* Epidemia de esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, p.725-728. 2001.
- BARBOSA FHF, MARTINS FS, BARBOSA LPJL, NICOLI JR. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de biologia e ciências da terra**, v.10, p. 78-93, 2010.

BARSOUM R. The changing face of schistosomal glomerulopathy. **Kidney International**, v. 66, p.2472-2484, 2004.

BERG RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. **Trends in Microbiology**, v. 3, p. 149-54, 1995.

BERG RD. The indigenous gastrointestinal microflora. **Trends in Microbiology**, v. 4, p. 430-435, 1996.

BISSO ML. Modelo Murino de Inflamação Intestinal Crônica: avaliação da dinâmica pela quantificação da microbiota intestinal. **Dissertação apresentada ao Mestrado de patologia**, UFF, 2008.

BOTTIEAU E, CLERINX J, DE VEGA MR, VAN DEN ENDEN E, COLEBUNDERS R, VAN ESBROECK M, *et al.* Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. **Journal of Infection**, v. 52, p. 339-345, 2006.

BOURÉE P, BOTTEREL F, ROMAND S. Delayed *Salmonella* bacteriuria in a patient infected with *Schistosoma hematobium*. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 32, p.355-360, 2002.

BOURLIOUX P, KOLETZKO B, GUARNER F, BRAESCO V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium “The Intelligent Intestine”, held in Paris, June 91 14, 2002. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 675-683, 2003.

BRANDT CT, LEITE CRC, MANHÃES-DE-CASTRO R, BRANDT FILHO C, CASTRO, CMMB. Aderência e atividade microbicida de monócitos em portadores de esquistossomose mansônica na forma hepatoesplênica cirúrgica. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 143-153, 2003.

BRANDT CT, LEITE CRC, MANHÃES-DE-CASTRO R, BRANDT FILHO C, MANHÃES-DE-CASTRO FM, CASTRO, CMMB. Avaliação do efeito da esplenectomia e auto-implante esplênico sobre algumas funções de monócitos em crianças com esquistossomose mansônica. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 1, p. 38-42, 2005.

BRANDTZAEG P. Development and basic mechanisms of human gut immunity. **Revista de Nutrição**, v.56, n.1, supp. 2, p. s5-s18, 1998.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação**. Esquistossomose. Brasília, DF, 2006/2009/2011.

BRENCHLEY JM, DOUEK DC. HIV infection and the digestório immune system **Mucosal Immunology**, v. 1, p. 23-30, 2008.

BUTTERWORTH A, DUNNE D, FULFORD A, CAPRON M, KHALIFE J, CAPRON A *et al.* Immunity in human schistosomiasis mansoni: cross-reactive IgM and IgG2 anticarbohydrate antibodies block the expression of immunity. **Biochimie**, v. 70, n. 8, p.1053-63, 1988.

CALDAS IR, CAMPI-AZEVEDO AC, OLIVEIRA LFA, SILVEIRA AMS, OLIVEIRA RC, GAZZINELLI G. Human schistosomiasis mansoni: Immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta Tropica**, v. 108, p.109-117, 2008.

CAMUS D, CARLIER Y, CAPRON M, BINA JC, FIGUEIREDO JFM, PRATA A *et al.* Immunological studies in human schistosomiasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.26, p. 482-90, 1977.

CAPRON A, DESSAINT JP. Immunologic aspects of schistosomiasis. **Annual Review of Medicine**, v. 43, p.209-18, 1992.

CARMO EH. Prevenção e controle da morbidade da esquistossomose no Brasil. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2009, Recife. Anais... Recife, 2009, v. 14.

CARVALHO BTC, IAZZETTI AV, FERRARINI MAG, CAMPOS SO, IAZZETTI MA, CARLESSE FAMC. Sepsis por *Salmonella* associada à deficiência do receptor da interleucina12 (IL-12R β 1). **Jornal de Pediatria**, v. 79, n.3, p.273-276, 2003.

CARVALHO OS, COELHO PMZ, LENZI HL. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Fiocruz, Rio de Janeiro; 2008.

ÇELİK A, AYDEMİR S, ALKANAT M, HABİF S, KESKİNOĞLU A, ERDENER D. Hemorrhagic Shock and Bacterial Translocation. **The Journal of Applied Research**, v. 5, n.1, p. 197-205, 2005.

CHEEVER AW, HOFFMANN KF, WYNN TA. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunology Today**, v. 21, n. 9, p. 465-6, 2000.

COLE JT, FLAUM MA. Postsplenectomy infections. **Southern Medical Journal**, v. 85, n. 12, p.1220-6, 1992.

COLOMBO AL, BRANCHINI ML, GEIGER D, SCHMIDT AL, PIGNATARI ACC, FISHMAN O. Gastrointestinal translocation as a possible source of candidemia in an AIDS patient. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 3, p. 197-200, 1996.

CURIEL M, CHAVES J, TORREALBA JW. Immunoglobulin levels in schistosomiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, p.384-7, 1974.

DEGU G, MENGISTU G, JONES J. Some factors affecting prevalence of and immune responses to *Schistosoma mansoni* in schoolchildren in Gorgora, northwest Ethiopia. **Ethiopian medical journal**, v. 4, p.345-352, 2002.

DEITCH EA, BERG R. SPECIAN R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. **Archives of Surgery**, v.122, n.1, p.185-190, 1987.

DEITCH EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. **Annals of Surgery**, v. 216, p. 117-134, 1992.

DESSEIN AJ, HILLAIRES D, ELWALI NE, MARQUET S, MOHAMED-ALI Q, MIRGHANI A *et al.* Severe hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infection is controlled by a major locus that is closely linked to the interferon-gamma receptor gene. **The American Journal of Human Genetics**, v. 65, n. 3, p.709-21, 1999.

DOMINGUES ALC, DOMINGUES LAW. Forma intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. In: MALTA J. (Ed). **Esquistossomose mansônica**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 1994. cap. 5, p. 91-105.

DUCLUZEAU R, RAIBAUD P. Bacterial interactions within the digestive tract. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v. 8, p. 313-329, 1989.

DUNNE C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 7, p. 136-145, 2001.

DUNNE DW, FULFORD AJC, BUTTERWORTH AE, KOECH D, OUMA JH. Human antibody responses to *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.82, p.101-4, 1987.

DUVALL RH, DEWITT WB. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 16, p. 483-486, 1967.

DWINELL MB, JOHANESSEN PA, SMITH JM. Immunobiology of epithelial chemokines in the intestinal mucosa. **Surgery**, v. 133, n.1, p.601-7, 2003.

ELIAS D, AKUFFO H, THORS C, PAWLOWSKI A, BRITTON S. Low dose chronic *Schistosoma mansoni* infection increases susceptibility to *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice. **Clinical and Experimental Immunology**, v.139, p. 398-404, 2005.

ENGELS D, SINZINKAYO E, GRYSEELS B. Day to day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, p. 319-24, 1996.

ESCOBEDO G, ROBERTS CW, CARRERO JC, MORALES-MONTOR J. Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? **Trends in Parasitology**, v. 21, 588-593, 2005.

FALK PG, HOOPER LV, MIDTVEDT T, GORDON JL. Creating and maintaining the digestório ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, p. 1157-1170, 1998.

FALLON PG. Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. **Immunology Today**, v. 21, p. 29-35, 2000.

FELDMEIER H, POGGENSEE G. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. **A Review. Acta. Tropical, Basel**, v. 52, p. 205-220, 1993.

FERRAZ AAB, CAMPOS JM, ARAÚJO JÚNIOR JGC, ALBUQUERQUE AC, FERRAZ EM. Gut Bacterial Translocation and Postoperative Infections: A prospective study in schistosomotic patients. **Surgical Infections**, v. 6, p. 197-201, 2005.

FERRAZ AAB, SANTOS JUNIOR MA, MATHIAS CA, MAGALHÃES M, BARCELAR T, FERRAZ EM. Modelo de peritonite experimental em camundongos esquistossomóticos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 8, p.28-31, 1993.

FERRAZ AP. Complicações cirúrgicas das esplenectomias. In: Petroianu A, editor. **O baço**. São Paulo: CLR Baliero, p. 307-10, 2003.

FERREIRA ILM, SILVA TPT. Mortalidade por esquistossomose no Brasil: 1980-2003. **Revista de Patologia Tropical**, v. 6, p.67-74, 2007.

GENCAY C, KILICOGLU SS, KISMET K, KILICOGLU B, EREL S, MURATOGLU S *et al.* Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, p. 3410-3415, 2008.

GIANOTTI L, ALEXANDER JW, FUKUSHIMA R, CHILDRESS C. Translocation of *Candida albicans* is related to the blood flow of individual intestinal villi. **Circulatory Shock**, v. 40, p. 250-7, 1993.

GONÇALVES JF, SANTANA W, BARBOSA CS, COUTINHO A. Esquistossomose aguda, de caráter episódico, na Ilha de Itamaracá, Estado de Pernambuco. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 7, p. 424-5, 1992.

GORBACH SL, SIMON GL. Intestinal flora and digestório function. **Phys. Gastroint. Tract**, 2 ed. New York: Raven Press, p. 1729-1747, 1987.

GROSSMAN CJ, ROSSELE GA, MENDENHALL CL. Sex steroid regulation of 5. autoimmunity. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, v. 649-59, 1994.

GROSSMAN CJ. Regulation of the immune system by sex steroids. **Endocrine Reviews**, v. 5, p. 435-455, 1984.

GRYSEELS B, POLMAN K, CLERINX J, KESTENS L. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 1106-1118, 2006.

GRZYCH JM, PEARCE E, CHEEVER A, CAULADA ZA, CASPAR P, HEINY S *et al*. Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni. **Journal of Immunology**, v. 146, p.1322-7, 1991.

GUARNER F, MALAGELADA JR. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v. 361, p. 512-519, 2003.

GUERRA LCM, NETO JE, MIRANDA PJC, SILVEIRA MJC, BRANDT CT, KELNER S. Variações dos valores séricos de IgG, IgA, IgM, C3 e C4 após esplenectomia em esquistossomóticos hepato-esplênicos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.6, p.123-6, 1991.

HATZ CF. Schistosomiasis: An Underestimated Problem in Industrialized Countries?. **Journal of Travel Medicine**, v. 12, p.1-2, 2005.

HESS JF, HEY PJ, CHEN TB, O'BRIEN J, OMALLEY SS, PETTIBONE DJ, CHANG RSL. Molecular cloning and pharmacological characterization of the canine B1 and B2 bradykinin receptors. **Journal of Biological Chemistry**, v. 382, p.123-129, 2001.

HOFFMAN WA, PONS JA, JANER JL. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-91, 1934.

HSIEH CS, ZHENG Y, LIANG Y, FONTENOT JD, RUDENSKY AY. An intersection between the self-reactive regulatory and nonregulatory T cell receptor repertoires. **Nature Immunology**, v. 7, p. 401-410, 2006.

ISOLAURI E, SALMINEN S, OUWEHAND AC. Microbial-gut interactions in health and disease - Probiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, 299-313, 2004.

JAIN SK, KANNAN K, PROUTY L, JAIN SK. Progesterone, but not 17 β -estradiol, increases TNF- α secretion in U937 monocytes. **Cytokine**, v. 26, n. 3, p. 102-5, 2004.

JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M, SHOMCHIK M. **Imunobiologia, o sistema imune na saúde e na doença**. 5^a ed. ARTMED, Porto Alegre, 2002.

JEPSON MA, CLARK MA. Studying M cells and their role in infection. **Trends in Microbiology**, v. 6, p. 359-365, 1998.

KANDA N, TAMAKI K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 103, p. 282-8, 1999.

KAPER JB, SPERANDIO V. Bacterial cell-to-cell signaling in the gastrointestinal tract. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 3197-3209, 2005.

KASILIMA YS, WANGO EO, KIGONDU CS, MUTAYOBA BM, NYINDO A. Plasma bioactive LH and testosterone profiles in male New Zealand rabbits experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 92, p. 165-172, 2004.

KATO K. A correct application of the thick-smear technique with cellophane paper cover. A pamphlet, p. 9. In y Komyia & a Kobayashi, an evaluation of Kato thick-smear. **Japanese Journal of Medical Science & Biology**, v. 19, p. 59-64, 1960.

KATZ N, ALMEIDA K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Revista Ciência e Cultura**, v. 55, p. 38-43, 2003.

KATZ N, CHAVES A, PELLEGRINO J. A simple device for quantitative stool-thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.14, p. 397-400, 1972.

KELLERMEYER RW, WARREN KS, WALDMANN TS, COOK JA, JORDON P. Concentration of serum immunoglobulins in ST Lucians with schistosomiasis mansoni compared with matched uninfected St. Vicentians. **Journal of Infectious Diseases**, v. 127, p. 557-62, 1973.

KIM AS, GARNI RM, HENRY-STANLEY MJ, BENDEL CM, ERLANDSEN SL, WELLS CL. Hypoxia and extraintestinal dissemination of *Candida albicans* yeast forms. **Shock**, v. 19, p. 257-262, 2003.

KLEESSEN B, BEZIRTZOGLU E, MATTO J. Culture based knowledge on biodiversity development and stability of human digestório microflora. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 2, p. 53-63, 2000.

KONEMAN EW. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6rd ed. São Paulo: MEDSI, 2008.

KOS FJ, ENGLEMAN EG. Immune regulation: a critical link between NK cells and CTLs. **Immunology Today**, v. 17, p. 174-6, 1996.

LAMBERTUCCI JR, RAYES AA, SERUFO JC, NOBRE V. Pyogenic abscesses and parasitic diseases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, 67-74, 2001.

LAMBERTUCCI JR. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 422-435, 2010.

LANGLEY JG, KARINKI HC, HAMMERSLEY AP, OUMA JH, BUTTERWORTH AE, DUNNE DW. Human IgG subclass response and subclass restriction to *Schistosoma mansoni* egg antigens. **Immunology**, v. 83, p. 651-8, 1994.

LANSOUD-SOUKATE J, LEONARDELLI J, TORPIER G, CROIX D, CAPRON A. Role of *Schistosoma mansoni* bilharziasis in male hypogonadism. **Pathologie Biologie (Paris)**, v. 39, n. 7, p. 681-5, 1991.

LEEMANS R, HARMS G, RIJKERS GT, TIMENS W. Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 117, p. 596-604, 1999.

LEVINSON W. **Microbiologia médica e imunologia**. 10rd ed. Porto Alegre: ARTMED, 2010.

LEWIS M, SWIRSKY D. The spleen and its disorders. In: Weatherall DJ, Ledinghan JGG, Warrell DA, editors. **Oxford textbook of medicine**. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; p. 3587-96, 1996.

LILIC D. New perspectives on the immunology of chronic mucocutaneous candidiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 15, p. 143-7, 2002.

LUCHETTI CG, SOLANO ME, SANDER V, ARCOS ML, GONZALEZ C, DI GIROLAMO G *et al*. Effects of dehydroepiandrosterone on ovarian cystogenesis and immune function. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 64, 59-74, 2004.

LUTZ A. O *Schistosoma mansoni* e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, p. 121-155, 1919.

MACFIE J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. **British Medical Bulletin**, v. 71, p. 1-11, 2004.

MACKIE R, SGHIR A, GASKINS HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p. 1035-1045, 1999.

MARCHETTI G, COZZI-LEPRI A, MERLINI E, BELLISTRÌ GM, CASTAGNA A, GALLI M *et al*. Microbial translocation predicts disease progression of HIV-infected antiretroviral-naïve patients with high CD4⁺ cell count. **AIDS**, 2011 [Epub ahead of print]

MARQUES RG, PETROIANU A, OLIVEIRA MBN, BERNARDO FM. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 388-393, 2002.

MCFARLAND LV. Normal flora: diversity and functions. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v.12, p. 193-207, 2000.

MCGUIRK P, MILLS KHG. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. **Trends in Immunology**, v. 23, p. 450-455, 2002.

MCKEE AS, PEARCE EJ. CD25⁺ CD4⁺ cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development. **Journal of Immunology**, v. 173, p.1224-31, 2004.

MELO A, COELHO P. *Shistosoma mansoni*, In: **Parasitologia Humana**, São Paulo: Ed. Atheneu, 2005.

MERRAN S, KARILA-COHEN P, SERVOIS V. Scanographie de la rate: anatomie normale, variantes et pièges = CT anatomy of the normal spleen: variants and pitfalls. **Bulletin de l'Association des anatomists**, v. 68, n.1, p. 27-33, 1984.

MOORE KW, WAAL MALEFYT R, COFFMAN RL, O'GARRA A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 683-765, 2001.

MUNIZ-JUNQUEIRA MI, TOSTA CE, PRATA A. Salmonelose septicêmica prolongada associada à esquistossomose: evolução do conhecimento e mecanismos imunopatogênicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 436-445, 2009.

NAABER P, MIKELSAAR RH, SALMINENT S, MIKELSAAR M. Bacterial translocation, intestinal microflora and morphological changes of intestinal mucosa in experimental models of *Clostridium difficile* infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 47, p. 591-598, 1998.

NAKAZAWA M, FANTAPPIE MR, FREEMAN GL JR, ELOI-SANTOS S, OLSEN NJ, KOVACS WJ *et al.* *Schistosoma mansoni*: susceptibility differences between male and female mice can be mediated by testosterone during early infection. **Experimental Parasitology**, v. 85, n. 3, p. 233-40, 1997.

NAUS CW, VAN REMOORTERE A, OUMA JH, KIMANI G, DUNNE DW, KAMERLING JP *et al.* Specific antibody responses to three schistosome-related carbohydrate structures in recently exposed immigrants and established residents in an area of *Schistosoma mansoni* endemicity. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 10, p. 5676-81, 2003.

NEVES DP, MELO AL, LINARDI PM, VITOR RWA. **Parasitologia humana**. 11ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

NICOLI JR, VIEIRA LQ. Microbiota gastrointestinal normal na doença e na saúde. In: CASTRO LP, COELHO LGV (Eds.). **Gastroenterologia**, Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda, p. 1037-1047, 2004.

NICOLI JR. Normal gastrointestinal microbiota in domestic animals and human beings. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin**, v. 15, p. 183-190, 1995.

NIEVES E, TOBÓN LF, RÍOS DI, ISAZA A, RAMÍREZ M, BELTRÁN JA *et al.* Bacterial translocation in abdominal trauma and postoperative infections. **Journal of Trauma**, 2011 [Epub ahead of print]

NIKITENKO VI, STADNIKOV AA, KOPYLOV VA. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. **Journal of Wound Care**, v. 20, n. 3, p. 114-22, 2011.

NISHIOKA AS, FERREIRA MS, BURGARELLI MKN. *Serratia marcescens* bacteremia associated with schistosomiasis mansoni. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, p. 191-193, 1992.

NORRIS RP, VERGIS EN, YU VL. Overwhelming postsplenectomy infection. **Infections in Medicine**, v. 13, p. 779-83, 1996.

NUCCI M, ANAISSE E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1959-1967, 2001.

OLDS GR, DASARATHY S. Schistosomiasis. **Current Treatment Options in Infectious Diseases**, v. 2, p. 88-99, 2000.

OLIVIER L, STIREWALT MA. An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. **Journal of Parasitology**, v.38, p.19-23, 1952.

PEARCE EJ, MACDONALD AS. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature Reviews**, v. 2, p. 499-511, 2002.

PELFREY CM. Sexual dimorphism in autoimmunity: a focus on Th1/14. Th2 cytokines and multiple sclerosis. **Clinical Application of Immunology**, v. 1, n. 6, p. 331-45, 2001.

PELLEGRINO J, SIQUEIRA AF. Técnica de perfusão para coleta de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. **Revista Brasileira de Doenças Tropicais**, v. 8, p. 589-597, 1956.

PETROIANU A, PETROIANU S. Anatomy of splenogastric vessels in patients with schistosomal portal hypertension. **Clinical Anatomy**, v. 7, p. 80-3, 1994.

PETROIANU A. Cirurgia do baço. In: Petroianu A, editor. **Clínica cirúrgica**, Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 429-42.

PETROIANU A. Pós-operatório em cirurgias do baço. In: Petroianu A, editor. **O baço**. São Paulo: CLR Balierop, p. 281-98, 2003.

PETROIANU A. **Urgências clínicas e cirúrgicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

PHILLIPS GS, RADOSEVICH MD, LIPSETT PA. Splenic abscess. **Archives of Surgery**, v. 132, n. 12, p. 1331-5, 1997.

PIMPL W, DAPUNT O, KAINDL H, THALHAMER J. Incidence of septic and thromboembolic related deaths after splenectomy in adults. **British Journal of Surgery**, v. 76, p. 517-21, 1989.

PINA A, VALENTE-FERREIRA RC, MOLINARI-MADLUM EE, VAZ CA, KELLER AC, CALICH VL. Absence of interleukin-4 determines less severe pulmonary paracoccidioidomycosis associated with impaired Th2 response. **Infection and Immunity**, v. 72, p. 2369-78, 2004.

POGGENSEE G, FELDMEIR H. Female genital schistosomiasis: Facts and Hypothesis **Acta Tropica**, v. 79, p.193-210, 2001.

PORDEUS LC, AGUIAR LR, QUININO LRM, BARBOSA CS. A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.17, n.3, p.163-175, 2008.

REMOUÉ F, TO VAN D, SCHACHT AM, PICQUET M, GARRAUD O, VERCROYSSÉ J *et al.* Gender-dependent specific immune response during chronic human Schistosomiasis haematobia. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 124, n. 1, p. 62-8, 2001.

RESENDE V, PETROIANU A, JUNIOR WCT. Autotransplantation for treatment of severe splenic lesions. **Emergency Radiology**, v. 9, p.208-12, 2002.

REY L. Parasitologia. Cap. *Schistosoma mansoni* e Esquistossomose: A Doença, p. 351, 1991.

ROMANI L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, p. 1-23, 2004.

ROUQUAYROL MZ, ALMEIDA FILHO N. **Epidemiologia e Saúde**, 6^{ed}, MEDSI, 728 p, 2003.

RUDLES C, LIN DH. Nutrition and the immune system of the gut. **Nutrition**, v.14, p.573-579, 1998.

SAAD AH, ABDELBAKY A, OSMAN AM, ABDALLAH KF, SALEM D. Possible role of *Schistosoma mansoni* infection in male hypogonadism. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 29, 307-323, 1999.

SAARELA M, LAHTENMAKI L, CRITTENDEN R, SALMINEN S, MATTILA-SANDHOLM T. Gut bacteria and health foods – the European perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, p. 99-117, 2002.

SAMICO MJA. Estudo da distribuição dos planorbídeos transmissores do *S. mansoni* em Piedade, Jaboatão dos Guararapes, Pe. Recife, 1989. **Monografia (Bacharelado)** - Faculdade de Filosofia do Recife, Pernambuco, 1989.

SÁNCHEZ-OLMEDO JI, ORTIZ-LEYBA C, GARNACHO-MONTERO J, JIMÉNEZ-JIMÉNEZ J, TRAVADO-SORIA P. *Schistosoma mansoni* and *Staphylococcus aureus* bacteremia: a deadly association. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 29, p. 1204, 2003.

SARVEL AK, KUSEL JR, ARAÚJO N, COELHO PMZ, KATZ N. Comparison between morphological and staining characteristics of live and dead eggs of *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 289-292, 2006.

SCHLEGEL RA, CALLAHAN MK, WILLIAMSON P. The central role of phosphatidylserine in the phagocytosis of apoptotic thymocytes. **New York Academy of Sciences**, v. 926, 217–225, 2000.

SCHRAMM G, HAAS H. Th2 immune response against *Schistosoma mansoni* infection. **Microbes and Infection**, v. 12, p. 881-8, 2010.

SCHUMACHER MJ. Serum immunoglobulin and transferrin levels after childhood splenectomy. **Archives of Disease in Childhood**, v. 45, p.114-7, 1970.

SCHWARTZ PE, STERIOFF S, MUCH P, MELTON III LJ, OFFORD KP. Postsplenectomy sepsis and mortality in adults. **Journal of the American Medical Association**, v. 248, p. 2279-83, 1982.

SEWELL D, QING Z, REINKE E, ELLIOT D, WEINSTOCK J, SANDOR M, FABRY Z. Immunomodulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by helminth ova immunization. **International Immunology**, v.15, p. 59-69, 2003.

SHERMAN MP. New concepts of microbial translocation in the neonatal intestine: mechanisms and prevention. **Clinics in Perinatology**, v. 37, 565-579, 2010.

SHIFF CJ, CMELIK SH, LEY HE, KRIEL RL. The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. **Journal of Parasitology**, v. 58, p. 476-80, 1972.

SHORTMAN K, LIU YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p.151-161, 2002.

SILVEIRA AM, GAZZINELLI G, ALVES-OLIVEIRA LF, BETHONY J, GAZZINELLI A, CARVALHO-QUEIROZ MC *et al.* Schistosomiasis mansoni: intensity of infection differentially affects the production interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-13 by soluble egg antigen or adult antigen stimulated cultures. **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 9, p. 514-9, 2004.

SINGER DB. Postsplenectomy sepsis. **Perspectives in Paediatric Pathology**, v. 1, p. 285-311, 1976.

SIQUEIRA LT, FERRAZ AAB, CAMPOS JM, LIMA FILHO JL, ALBUQUERQUE MCPA, AIRES AL *et al.* Analysis of plasma citrulline and intestinal morphometry in mice with hepatosplenic schistosomiasis. **Surgical Infection**, v.11, p.1-8, 2010.

SPAETH G, SPECIAN RD, BERG RD, DEITCH EA. Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation. **Journal of Trauma**, v. 30, p.1267-72, 1990.

STADECKER MJ, FLORES-VILLANUEVA PO. The role of T cell anergy in the immunomodulation in schistosomiasis. **Parasitology Today**, v. 15, p. 571-4, 1992.

STANDEN D. The effect of temperature light and salinity upon the hatching of the ova of *Schistosoma mansoni*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.45, p.225-24, 1952.

STEINBERG SM. Bacterial translocation: what it is what it is not. **The American Journal of Surgery**, v. 186, p. 301-306, 2003

STEINFELDER S, ANDERSEN JF, CANNONS JL, FENG CG, JOSHI M, DWYER D *et al.* The major component in schistosome eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease (omega-1). **Journal of Experimental Medicine**, 206, n. 8, p. 1681-90, 2009.

STOCKINGER B, BOURGEOIS C, KASSIOTIS G. CD4⁺ memory T cells: functional differentiation and homeostasis. **Immunological Reviews**, v.211, p. 39-48, 2006.

SUMARAJU V, SMITH LG, SMITH SM. Infectious complications in asplenic hosts. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.15, p. 551-65, 2001.

SUZUKI S, KITAZAWA T, OTA Y, OKUGAWA S, TSUKADA K, NUKUI Y *et al.* Dengue hemorrhagic shock and disseminated candidiasis. **Internal Medicine**, v. 46, p. 1043-1046, 2007.

TANG Q, BLUESTONE JA. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. **Immunological Reviews**, p. 212, 217-37, 2006.

TANNOCK GW. **Normal Microflora**, London: Chapman & Hall, 1995.

TAYLOR JJ, MOHRS M, PEARCE EJ. Regulatory T cell responses develop in parallel to Th responses and control the magnitude and phenotype of the Th effector population. **Journal of Immunology**, v. 15, p. 176, n. 10, p. 5839-47.

TEIXEIRA R, COELHO PMZ, BRASILEIRO FILHO G, AZEVEDO JUNIOR GM, SERUFO JC, PFEILSTICKER FJ. Pathogenic aspects of pyogenic liver abscess associated

with experimental schistosomiasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, p. 298-302, 2001.

TELES HMS. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 5, p. 426-432, 2005.

TENNENBERG AM, SEPKOWITZ KA. Postsplenectomy infections in oncologic patients. **Infections in Medicine**, v. 13, n. 1, p. 15-21, 1996.

TIMENS W, LEEMANS R. Splenic autotransplantation and the immune system. **Annals of Surgery**, v. 215, p. 256-260, 1991.

TORRES OJM, CAMPOS ACL, MALAFAIA O, MELO TCM, MARQUES SG, DIETZ UA. Translocação bacteriana: efeito de dieta imunoestimuladora em ratos com oclusão intestinal. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 26, p. 1-6, 1999.

TRAETOW WD, FABRI PJ, CAREY LC. Changing indications for splenectomy. **Archives of Surgery**, v. 115, n. 4, p. 447-51, 1980.

VAN DER WAAIJ D. The ecology of the human intestine and its consequences for overgrowth by pathogens such as *Clostridium difficile*. **Annual Review of Microbiology**, v. 43, p. 67-87, 1989.

VAUGHAN EE, SCHUT F, HEILIG HGHJ, ZOETENDAL EG, DE VOS WM, AKKERMANS ADL. A molecular view of the intestinal ecosystem. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 1, p. 1-12, 2000.

WAKKACH A, FOURNIER N, BRUN V, BREITTMAYER JP, COTTREZ F, GROUX, H. Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory 1 cell differentiation in vivo. **Immunity**, v. 18, p. 605-617, 2003.

WIEST R, RATH HC. Bacterial translocation in the gut. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, p. 397-425, 2003.

WILSON MK, MENTINK-KANE M, PESCE JT, RAMALINGAM TR, THOMPSON R, WYNN TA. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and Cell Biology**, v. 85, p. 148-154, 2007.

WILSON RA. The saga of schistosome migration and attrition. **Parasitology**, v. 136, p. 1581-1592, 2009.

ZANONI FL, BENABOU S, GRECO KV, MORENO AC, CRUZ JW, FILGUEIRA FP *et al.* Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. **Clinics**, v. 64, p. 911-919, 2009.