

DANIELLSON DIMBARRE

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO E DA LAPAROTOMIA NA
POPULAÇÃO BACTERIANA INTRA-PERITONEAL E NA
OCORRÊNCIA DE BACTEREMIA EM RATOS WISTAR COM
PERITONITE FECAL**

CURITIBA

1999

DANIELLSON DIMBARRE

**EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO E DA LAPAROTOMIA NA
POPULAÇÃO BACTERIANA INTRA-PERITONEAL E NA
OCORRÊNCIA DE BACTEREMIA EM RATOS WISTAR COM
PERITONITE FECAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka.
Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos.

CURITIBA

1999

TERMO DE APROVAÇÃO

DANIELLSON DIMBARRE

EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO E DA LAPAROTOMIA NA POPULAÇÃO BACTERIANA INTRA-PERITONEAL E NA OCORRÊNCIA DE BACTEREMIA EM RATOS WISTAR COM PERITONITE FECAL

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof^o. Dr. João Carlos Domingues Repka

Coordenador: Prof^o. Dr. Antônio Carlos Ligoki Campos

Curitiba, 1999

DEDICATÓRIA

Ao meu pai **Daniel**,
pela sua lealdade, honestidade e caráter
que me direcionaram,
ao mesmo tempo que me ensinavam a amá-lo e respeitá-lo.

À minha mãe **Lenira**,
a quem Deus presenteou com o perfeito equilíbrio entre amor,
dedicação, carinho, sabedoria e perseverança.

À minha esposa **Kiara**,
por sua compreensão, incentivo, amor, sabedoria
e espírito de luta.

À minha filhinha **Amanda**,
que pelo simples fato de nascer transformou a
minha vida e que pela sua simplicidade, carinho e
amor incondicional, serve de alento à alma,
fazendo-me acreditar cada vez mais no amanhã.

À minha irmã **Denise**,
pelo sua amizade e constante incentivo.

AGRADECIMENTOS

Consigno aqui, cumprindo um dever gratíssimo, os agradecimentos àqueles que como mestres, amigos ou colaboradores, participaram da minha formação cirúrgica ou me estimularam a desenvolver este trabalho.

Ao meu orientador, **PROFESSOR Dr. JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA**, pela sua dedicação incansável em todas as fases da realização deste trabalho, minha eterna gratidão. Pela sua incondicional amizade e por ser exemplo de vida e entusiasmo pela ciência, meu profundo respeito e admiração.

Ao **PROFESSOR Dr. OSVALDO MALAFAIA**, Ex-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pela sua didática incomparável e pelo seu espírito empreendedor.

Ao **PROFESSOR Dr. ANTÔNIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pela sua dedicação ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica e pelas valiosas orientações, de fundamental importância para a finalização deste estudo.

Ao **Dr. NEMER HAJAR**, pela grande amizade, pelo apoio profissional e pelos valiosos ensinamentos em cirurgia vídeo-laparoscópica, que foram muito úteis tanto na vida profissional quanto na elaboração desta tese.

Ao **Dr. FABIANO ELIAS**, pela verdadeira e leal amizade, e também pelo incentivo na realização deste trabalho.

Ao **Dr. GASSAN TRAYA**, pela amizade e pelos conselhos sempre muito úteis.

Ao **Dr. FERNANDO CÉSAR KOLESKI**, pelo auxílio na correção deste trabalho.

Aos **PROFESSORES Dr. JÚLIO CEZAR U. COELHO, Dr. JÚLIO CÉSAR WIEDERKEHR, Dr. CLEMENTINO ZENI NETO, Dr. JORGE EDUARDO FOUTO MATIAS** da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas.

Aos **MÉDICOS Dr. EDUARDO LOPES MARTINS, Dr. ALEXANDRE TEIXEIRA DE FREITAS, Dr. JOSUÉ CÂNDIDO PEREIRA**, do serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas, onde iniciei minha formação cirúrgica.

À **FACULDADE EVANGÉLICA DE MEDICINA DO PARANÁ**, pela disponibilização do laboratório de Imunologia e Microbiologia para realização da parte experimental deste trabalho.

Aos acadêmicos da **FACULDADE EVANGÉLICA DE MEDICINA DO PARANÁ: ALESSANDRO HARTMANN, VINICIUS RIBAS CARVALHO DUARTE**

DA FONSECA, KELLY CHI, MANUELA BASSETI DE SOUZA LIMA, GUATAÇARA SALLES JÚNIOR E GUSTAVO MARCHESINE PAUL pelo apoio na execução dos experimentos.

À **BIBLIOTECÁRIA ÁUREA MARIA COSTIN** da Biblioteca do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná pela revisão e correção das referências bibliográficas.

À **SECRETÁRIA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA, Sra. MARLEI VIEIRA RIBEIRO** pela sua sempre pronta disponibilidade e dedicação aos alunos da pós-graduação.

À **Sra. DULCE DE OLIVEIRA VALÉRIO** e à **Srta. SUELI TEREZINHA DE OLIVEIRA**, pela eficaz revisão das correções de língua portuguesa, deste trabalho.

Ao **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA** do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

À **CAPES**, pela concessão de bolsa de estudo que possibilitou a completa realização deste projeto.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE GRÁFICOS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 HISTÓRICO.....	3
2.2 MODELOS DE INDUÇÃO DE PERITONITE.....	4
2.3 EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO.....	6
3 MATERIAL E MÉTODO	13
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	13
3.2 ANIMAIS UTILIZADOS.....	14
3.3 INDUÇÃO DE PERITONITE.....	15
3.3.1 Preparação do Inoculo Fecal.....	15
3.3.2 Controle Microbiológico da Suspensão Fecal.....	15
3.3.3 Inoculação dos Animais.....	16
3.4 INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO E IRRIGAÇÃO INTRA-ABDOMINAL....	17
3.5 LAPAROTOMIA E IRRIGAÇÃO INTRA-ABDOMINAL.....	19
3.6 COLETA DE AMOSTRAS.....	20
3.6.1 Coleta de Sangue.....	20
3.6.2 Coleta de Lavado Intra-Abdominal.....	21
3.7 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBICAS.....	22
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	23
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO	29
5.1 DO MODELO ANIMAL.....	29
5.2 DO MODELO DE INDUÇÃO DA PERITONITE.....	31
5.3 DO MODELO DE INDUÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO.....	32
5.4 DO PNEUMOPERITÔNIO EM VIGÊNCIA DE PERITONITE.....	33
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO 1 - PREPARAÇÃO DO INÓCULO FECAL	49
ANEXO 2 - CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA SUSPENSÃO FECAL	50
ANEXO 3 - INOCULAÇÃO DOS ANIMAIS	51
ANEXO 4 - INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO E IRRIGAÇÃO DA	52
CAVIDADE ABDOMINAL	
ANEXO 5 - LAPAROTOMIA E IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL....	53
ANEXO 6 - COLETA DE AMOSTRAS	54
ANEXO 7 - CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBICAS	55
ANEXO 8 - CÁLCULOS ESTATÍSTICOS	56
ANEXO 9 - DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM	57
AMOSTRAS DE SANGUE	

ANEXO 10 - DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM 58
AMOSTRAS DE LÍQUIDO
PERITONEAL.....

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - INJEÇÃO INTRA-PERITONEAL DO INÓCULO FECAL.....	16
FIGURA 2 - INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO.....	17
FIGURA 3 - COLETA DE AMOSTRA DE SANGUE.....	18
FIGURA 4 - COLETA DO LÍQUIDO PERITONEAL.....	19
FIGURA 5 - ASPECTO DA CAVIDADE ABDOMINAL APÓS 12 HORAS DE INDUÇÃO DE PERITONITE.....	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	DEMONSTRATIVO DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	13
TABELA 2 -	DEMONSTRATIVO DOS GRUPOS COMPARADOS E DAS HIPÓTESES A SEREM COMPROVADAS ESTATISTICAMENTE.....	21
TABELA 3 -	DEMONSTRATIVO DOS LIMITES DE VARIAÇÕES (95%) DAS CONTAGENS TOTAIS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS (UFC/ML) NAS AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL DOS ANIMAIS ESTUDADOS ANTES E APÓS LAPAROTOMIA E PNEUMOPERITÔNIO (T1 E T2).....	23
TABELA 4 -	DEMONSTRATIVO DOS LIMITES DE VARIAÇÕES (95%) DAS CONTAGENS TOTAIS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS (UFC/ML) NAS AMOSTRAS DE SANGUE DOS ANIMAIS ESTUDADOS ANTES E APÓS LAPAROTOMIA E PNEUMOPERITÔNIO (T1 E T2).....	24
TABELA 5 -	DEMONSTRATIVO DOS VALORES DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P) ENTRE OS GRUPOS DE ANIMAIS ESTUDADOS, CONFORME OS PROCEDIMENTOS REALIZADOS E AMOSTRAS AFERIDAS.....	25

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T1 EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL.....	24
GRÁFICO 2 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T2 EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL.....	25
GRÁFICO 3 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T1 EM AMOSTRAS DE SANGUE.....	26
GRÁFICO 4 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T2 EM AMOSTRAS DE SANGUE.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS

@	Registrado, marca patenteada
%	Porcentagem
BHI	Agar Brain Hearth Infusion (Infusão de Cérebro e Coração)
CO₂	Dióxido de Carbono
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
g	Gramas(s)
H	Hora(s)
HCO₃	Ácido Carbônico – Bicarbonato
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IP	Intra-peritoneal
LAP	Grupo de animais submetidos à laparotomia
mg.Kg⁻¹	Miligrama por quilograma de peso corpóreo
ml	Mililitro(s)
mmHg	Milímetros de Mercúrio
n	Número de animais
N	Grupo de animais normais não submetidos a procedimentos cirúrgicos
O₂	Oxigênio
°C	Graus Celsius
°GL	Graus Gay-Lussac
pCO₂	Pressão parcial de Dióxido de Carbono
pH	Potencial Hidrogeniônico
pO₂	Pressão parcial de Oxigênio
PP	Grupo de animais submetidos à indução de Pneumoperitônio
PT	Grupo de animais submetidos à indução de Peritonite
PT+LAP	Grupo de animais submetidos à laparotomia e irrigação da cavidade abdominal, em vigência de peritonite fecal
PT+PP	Grupo de animais submetidos à pneumoperitônio e irrigação da cavidade abdominal, em vigência de peritonite fecal
SSI	Solução Salina Isotônica – NaCl a 0,9%
T1	Coleta de amostras antes dos procedimentos de lavagens intra-abdominais
T2	Coleta de amostras 5 horas após os procedimentos de lavagens intra-abdominais
TNF	Tumor Necrosis Factor (Fator de Necrose Tumoral)
UFC/ml	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro da amostra

RESUMO

Os objetivos do presente estudo foram comparar as populações bacterianas intra-peritoneais e os níveis de bacteremia, em ratos induzidos com peritonite fecal e pneumoperitônio ou laparotomia, com irrigação da cavidade abdominal. Foram utilizados 60 ratos Wistar machos, pesando entre 276 e 290g, divididos em 6 grupos com 10 animais cada. A indução da peritonite foi feita pela inoculação intra-peritoneal de 0,5ml de suspensão fecal humana. O pneumoperitônio foi realizado por 60 minutos, com dióxido de carbono, em pressão constante de 10mmHg. No grupo peritonite e pneumoperitônio (PT+PP) os animais foram submetidos a pneumoperitônio e irrigação da cavidade abdominal com 20ml de solução salina isotônica 12 horas após à indução da peritonite. No grupo peritonite e laparotomia (PT+LAP) procedeu-se laparotomia 12 horas após a indução da peritonite com concomitante irrigação similar da cavidade abdominal. Nos demais grupos realizaram-se: pneumoperitônio e irrigação da cavidade abdominal sem indução prévia de peritonite (PP); indução de peritonite (PT); laparotomia e irrigação da cavidade abdominal sem indução prévia de peritonite (LAP) e o grupo de controle normais (N) no qual se realizou somente coleta de amostras. As amostras de sangue e líquido peritoneal foram coletadas em todos os grupos, 12 horas após a indução da peritonite (T1) e 5 horas após a realização dos procedimentos: laparotomia, pneumoperitônio ou controles (T2). Os resultados obtidos foram: Ocorrência de bacteremia com níveis similares de contagens de bactérias aeróbicas em todos os grupos submetidos à indução de peritonite. O pneumoperitônio e a laparotomia não induziram bacteremia em ratos normais. Os grupos PT+LAP e PT+PP apresentaram redução nos níveis de contaminação peritoneal, quando comparados ao grupo PT ($p=0,00004$ e $p=0,0000006$). Os grupos PT+LAP e PT+PP não diferiram entre si, quanto à população bacteriana intra-peritoneal ($p=0,8282$). No grupo PT+PP os níveis de bacteremia foram significativamente maiores que no grupo PT+LAP ($p=0,0035$). Concluiu-se nestas condições experimentais, que tanto a laparotomia quanto o pneumoperitônio, ambos, acompanhados de irrigação da cavidade abdominal com Solução Salina Isotônica apresentaram efeitos similares sobre a população bacteriana intra-abdominal em ratos com peritonite induzida; contudo, o pneumoperitônio com dióxido de carbono, durante 60 minutos, sob pressão constante, acompanhados de irrigação da cavidade com SSI, determinou níveis mais elevados de bacteremia que a laparotomia sob as mesmas condições de irrigação da cavidade abdominal.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the bacteremia levels and the peritoneal bacterial population in peritonitis induced rats managed either by pneumoperitoneum or laparotomy with abdominal cavity irrigation. Sixty male Wistar rats weighing 276-290g were divided in 6 groups with 10 animals each. The peritonitis induction was created by intraperitoneal inoculation of 0,5cc of human faecal suspension. The pneumoperitoneum was maintained by 60 minutes, with carbon dioxide, under 10 mmHg of constant pressure. In the peritonitis-pneumoperitoneum group (PT+PP), the rats were submitted to abdominal cavity irrigation with 20 ml of isotonic saline solution, 12 hours after the peritonitis induction. In the laparotomy-peritonitis (PT+LAP) group, laparotomy and cavity irrigation were performed, 12 hours after peritonitis induction. The remaining groups underwent pneumoperitoneum and abdominal cavity irrigation without previously peritonitis induction (PP); peritonitis induction only (PT); laparotomy with abdominal cavity irrigation without previously peritonitis induction (LAP) and the control group (N). The blood samples and peritoneal fluid samples were harvested in all groups 12 hours after the peritonitis induction (T1) and 5 hours (T2) after the following procedures: laparotomy, pneumoperitoneum and in the control group. The results were: bacteremia with similar levels of aerobic bacterial amount in all groups submitted to peritonitis induction. In the no-peritonitis induced groups no bacteremia was observed. In the groups PT+LAP and PT+ PP the peritoneal bacterial population was reduced when compared with PT ($p=0,00004$) and ($p=0,0000006$). Both groups PT+LAP and PT+ PP did not express any difference in the peritoneal bacterial population ($p=0,8282$). In the PT+PP group was observed significantly higher bacteremia levels than PT+LAP ($p=0,0035$). In these experimental conditions was possible to assume that laparotomy with abdominal cavity irrigation with isotonic saline solution and pneumoperitoneum with abdominal cavity irrigation with isotonic saline solution had similar effects in the peritoneal bacterial population in peritonitis induced rats. Therefore the carbon dioxide pneumoperitoneum during 60 minutes under constant pressure resulted in higher bacteremia levels than the standard procedure, laparotomy.

INTRODUÇÃO

Com o tratamento cirúrgico e uso de antibioticoterapia adequada, os índices de morbi-mortalidade associados à peritonite reduziram-se significativamente. Entretanto, as causas para a evolução insatisfatória de muitos pacientes submetidos a condutas terapêuticas padronizadas, têm motivado incessantes estudos experimentais de fenômenos fisiopatológicos, interação bactéria-hospedeiro e imunológicos que se especula serem determinantes na resposta do hospedeiro à terapêutica da sepse de origem abdominal. Inúmeros modelos experimentais têm sido desenvolvidos, em animais de laboratório, objetivando-se a indução de peritonite polimicrobiana o mais semelhante possível, a que ocorre no homem.

Como avanço recente no tratamento cirúrgico das peritonites destaca-se o emprego da cirurgia laparoscópica. Bastou pouco mais de uma década, para que os médicos do final deste milênio recuperassem um século de total esquecimento da laparoscopia como método terapêutico em medicina, desde que foi utilizada pela primeira vez por KELLING, em 1901⁶⁸. Com o desenvolvimento de novos instrumentais e aperfeiçoamento técnico, após a primeira colecistectomia, em 1987, a laparoscopia tem revolucionado a cirurgia abdominal. O fascínio pela alta hospitalar precoce, rápido retorno às atividades habituais, menor dor pós-operatória e ainda melhores resultados estéticos tem reduzido rapidamente as contra-indicações e aumentado as indicações do método³¹. Os resultados de sua utilização no diagnóstico e tratamento de trauma abdominal fechado, no abdome agudo, no reparo de úlcera duodenal perfurada, apendicectomia e inclusive no tratamento de formas complexas de peritonite aguda como na diverticulite aguda complicada, têm sido publicados em várias séries clínicas e tendem a se tornar rotina em muitos serviços especializados.

Os inegáveis benefícios, entretanto, não tornam suas aplicações ilimitadas. Complicações como lesões de alças intestinais, vasos sangüíneos, insuflação pré-peritoneal, de omento ou víscera, estase venosa, diminuição do débito cardíaco, arritmias cardíacas, têm sido associadas à infreqüente morbi-mortalidade (22,29).

Recentemente, a laparoscopia determinando aumento dos índices de bacteremia, como descrito de maneira controversa, em poucos estudos experimentais, pelo risco teórico aumentado de sepse e pela utilização cada vez maior da técnica no tratamento das peritonites; obriga-nos a responder ao seguinte questionamento: É o pneumoperitônio, por si só, fator causador de aumento dos índices de bacteremia quando utilizado em vigência de peritonite?

Pelo anteriormente exposto, este estudo tem como objetivos:

1. Comparar os efeitos da irrigação da cavidade abdominal com SSI, através de laparotomia e em vigência de pneumoperitônio na multiplicação bacteriana intra-peritoneal, em ratos Wistar com evolução de peritonite fecal por 12 horas.
2. Comparar os níveis de disseminação hematogênica de bactérias aeróbicas em ratos Wistar com evolução de peritonite fecal por 12 horas, submetidos à irrigação da cavidade abdominal com SSI em vigência de pneumoperitônio e através de laparotomia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

Em 1901, um cirurgião alemão, KELLING (68), declarou pela primeira vez que os órgãos intra-abdominais poderiam ser observados pela introdução de um cistoscópio via trocar. JACOBUS (68) em 1911, em Estocolmo, publicou seus resultados iniciais utilizando laparoscopia e toracoscopia com propósito diagnóstico. Em 1937, RUDDOCK (68), nos Estados Unidos utilizou a laparoscopia com ar ambiente em 500 casos com mortalidade de 0,2% e a denominou de peritoneoscopia.

Entretanto foi o gastroenterologista KALK (68) o verdadeiro pioneiro na laparoscopia. Em 1929 introduziu novos instrumentos e concepções de como induzir um pneumoperitônio de forma segura. Influenciou a aceitação da laparoscopia na Europa, principalmente entre hepatologistas. Por décadas a insuflação de ar foi o método de escolha por apresentar custos acessíveis e estar prontamente disponível. A partir do momento em que os ginecologistas passaram a utilizar o método, inclusive com a eletrocoagulação, o gás preferido passou a ser o dióxido de carbono, por não ser combustível, ser incolor, altamente solúvel no sangue, e rapidamente eliminado da corrente circulatória pelos pulmões.

Em 1987, MOURET (68) realizou a primeira colecistectomia por vídeo-laparoscopia, revolucionando a história da laparoscopia em Medicina. Desde então, as aplicações da laparoscopia terapêutica expandiram-se rapidamente, inclusive em condições anteriormente consideradas contra-indicações, como no tratamento das peritonites.

2.2 MODELOS DE INDUÇÃO DE PERITONITE

Na busca incessante por métodos terapêuticos capazes de diminuir os elevados índices de morbidade e mortalidade da peritonite, diversos modelos experimentais foram desenvolvidos, aproximando-se da peritonite humana.

A remoção de um selo de 3 mm da parede colônica, em cães, conforme descrito por BURNET *et al* (15) em 1957, produziu invariavelmente peritonite grave com índice de mortalidade de 85%. Índice corroborado também por SISEL *et al* (73). que insuflaram rapidamente 10ml de solução salina isotônica em balão de sonda de Foley, introduzida 7cm por via anal em coelhos, produzindo invariavelmente ruptura colônica e peritonite fecal. Além disso, puderam avaliar a peritonite associada a substâncias adjuvantes, através da introdução de sulfato de bário.

BORNSIDE *et al* (13). em 1968, conseguiram através da injeção intraperitoneal de *Escherichia coli* e hemoglobina, diminuir a absorção bacteriana e portanto, aumentar sua proliferação e liberação de toxinas que ao serem absorvidas produziram peritonite de elevada letalidade.

ROSATO *et al* (66) em 1972, comprovaram os efeitos benéficos da lavagem peritoneal em modelos experimentais de peritonite. Estudaram 41 cães submetidos à indução de peritonite através de alça cega avascular. Destes, 15 receberam somente tratamento suportivo, sem antibioticoterapia e 26 foram tratados com lavagem peritoneal, com 3 a 4 litros de solução de ringer lactato., sem antibioticoterapia. A mortalidade neste grupo foi de 65% contra 100% no primeiro grupo. A lavagem, portanto, comprovou ser indiscutivelmente benéfica. Em todas as séries publicadas, até aquele momento, não haviam sido encontradas diferenças estatisticamente significativas quando se comparavam a lavagem única peroperatória com a lavagem administrada a cada 24 a 48 horas. Em todos os cães que morreram no grupo com lavagem encontrou-se peritonite, isto ocorreu pela dificuldade técnica da lavagem

somente, sem a remoção manual, não remover grandes quantidades de fluidos e fluidos loculados.

SMITH *et al* (75) em 1973, realizaram a ligadura vascular do apêndice, saturaram o lúmen apendicular de cães com fezes e em seguida ligaram a base do apêndice. A peritonite obtida foi letal em todos os animais que não receberam qualquer tratamento.

WEINSTEIN *et al* (83) em 1974, trouxeram importante colaboração ao utilizarem em ratos, a inoculação intra-peritoneal de cápsula de gelatina contendo fezes de ratos alimentados com carne e observaram que no décimo dia todos os sobreviventes tinham abscessos intra-abdominais localizados.

BROWNE *et al* (14) em 1976, estabeleceram modelo de controle preciso sobre a quantidade e as cepas de bactérias, utilizando a injeção intraperitoneal de culturas puras de bactérias em camundongos e porcos.

STEWART *et al* (77) em 1978, realizando a injeção intraperitoneal de homogeneizado de fezes de rato, estabeleceram um modelo de indução de peritonite fecal grave e de início rápido, pois não houve sobreviventes nos submetidos apenas a laparotomia. Modelo similar estabeleceram ARTZ *et al*, utilizando injeção intraperitoneal de homogeneizado de fezes de cães.

NICHOLS *et al* (59) em 1978, utilizaram a inoculação intraperitoneal de cápsula de gelatina contendo fezes humanas, em ratos e obtiveram peritonite aguda em todos. A cultura do exsudato mostrou quatro bactérias em maior número: *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* e *Clostridium perfringens*, muito próximo do espectro de infecção intraperitoneal no homem.

ROCHA (65) em 1986, conseguiu através do modelo simples da injeção intraperitoneal de 0,5ml de homogeneizado de fezes humanas em cobaias, a indução de peritonite fecal polimicrobiana muito próxima à encontrada nas peritonites humanas.

De maneira similar, GUILGEN (34), em 1992, em nosso meio, aplicou o método de inoculação polimicrobiana com inóculo conhecido e inóculo de *Escherichia coli* e *Bacteroides fragilis*, com diferentes concentrações bacterianas no inóculo e realizando eutanásia em 24 e 120 horas. Observaram que concentrações de 10^6 a 10^7 não causaram peritonite aguda e que concentrações de 10^8 e 10^9 , determinaram peritonite aguda e óbito em menos de 24 horas, em todos os ratos, relatando, portanto, a dificuldade em se induzir peritonite não fatal naquele modelo experimental.

2.3 EFEITOS DO PNEUMOPERITÔNIO

A possibilidade de efeitos hemodinâmicos deletérios do pneumoperitônio, podendo culminar com a síndrome compartimental, já encontrava respaldo na literatura, mesmo antes da utilização da laparoscopia como método de rotina no tratamento das enfermidades abdominais. CALDWELL e RICOTTA (16) em 1986, estudaram em cães o fluxo sanguíneo de órgãos intra-abdominais usando microesferas radioativas, introduzidas através do átrio esquerdo e submetendo os animais a valores pressóricos progressivos intra-abdominais de 20 a 40 mmHg através de bolsas infláveis. O resultado foi a diminuição de fluxo sanguíneo para todos os órgãos, exceto supra-renais, com níveis mais marcantes de diminuição de fluxo sanguíneo que aqueles atribuíveis somente à diminuição do débito cardíaco, sugerindo que aumento de pressão intra-abdominal pode levar à isquemia visceral e disfunção orgânica.

A partir da intensa utilização do pneumoperitônio, comprovou-se a possibilidade de isquemia visceral com a laparoscopia. SCHILLING *et al* (70)., em 1997, estudaram as mudanças na microcirculação de vários órgãos intra-abdominais através de laser doppler, quando se alterava a pressão intra-peritoneal entre 0, 10 e 15 mmHg. A elevação da pressão intra-peritoneal para 15 mmHg determinou redução

no fluxo sanguíneo de 54% no estômago, 32% no jejuno, 44% no cólon, 39% no fígado e 60% no peritônio parietal, mesmo com pressão arterial constante.

Para estabelecer o nível pressórico adequado em estudos experimentais em ratos, em 1996, BERGER, CORNELIUS e DALTON (9) submeteram os animais a diferentes níveis de pressão (0, 2, 5, 10 e 15 mmHg) de pneumoperitônio com CO₂ e anestesia com ventilação espontânea. Catéteres foram colocados na artéria femoral e veia jugular, para medir frequência cardíaca, pressão arterial, pH, PCO₂, HCO₃, enquanto um catéter no arco aórtico media débito cardíaco e temperatura. Os autores estabeleceram, definitivamente, que pressão de pneumoperitônio maior que 10 mmHg, não deve ser utilizada em ratos, por determinar significativas acidose respiratória e bradicardia. Os autores acreditaram que, em humanos, poder-se-iam utilizar pressões maiores, até 15 mmHg, sem maiores efeitos adversos, pela possibilidade de se controlar a hipercarbia, devido a ventilação controlada, ao contrário dos animais, quando normalmente a ventilação é espontânea.

Estudos anteriores relataram que isquemia intestinal pode determinar translocação bacteriana. Por isso, ELEFTHERIADIS *et al* (26), em 1996, estudaram 88 ratos, 40 dos quais submetidos a pneumoperitônio, durante 60 minutos com pressão de 15 mmHg, o restante submetido a laparotomia. Avaliaram os seguintes parâmetros: média da pressão arterial por cateterização carotídea, microcirculação intestinal por meio de laser doppler, atividade metabólica intestinal (extração de O₂) por amostragem de sangue venoso portal e arterial carotídeo, produção de radicais livres de peróxido em intestino, fígado, baço e pulmões, pela pesquisa de malondialdeído e ainda translocação bacteriana 3 e 18 horas após a desinsuflação do pneumoperitônio. Observaram diminuição significativa na microcirculação, bem como na atividade metabólica intestinal. Os níveis de malondialdeído aumentaram significativamente na mucosa intestinal, fígado, baço e pulmões. A translocação bacteriana para linfonodo, baço e fígado aumentou significativamente no grupo 3 horas. No grupo analisado após 18 horas não se encontrou bactérias nos linfônodos, mas no fígado e baço. Concluiu-se que pressão intra-abdominal elevada em ratos determina isquemia intestinal, produção de radicais livres e translocação bacteriana.

Segundo o estudo de BLOECHLE *et al* (11) em 1995, não somente os níveis pressóricos são importantes para a utilização segura do pneumoperitônio, bem como, o tempo de evolução da peritonite. Os autores induziram a formação de úlcera gástrica em ratos, através da instilação de 2ml de etanol a 50%, seguida de gastrostomia para simular perfuração. O pneumoperitônio foi realizado 6,9,12,24 horas após a gastrostomia. Os animais foram sacrificados 5 horas após o término do pneumoperitônio. À avaliação das 6 e 9 horas, não houve nenhuma diferença entre o grupo pneumoperitônio e os grupos-controle. Às 12 horas, a frequência de culturas de sangue positivas e de coleções líquidas abdominais foram respectivamente 67% e 75% no grupo pneumoperitônio e 42% ($p < 0,05$) e 42% ($p < 0,05$) no grupo controle. Vinte e quatro horas após a gastrostomia os índices de positividade no sangue e coleções abdominais foram 83% e 100% no grupo pneumoperitônio e 42% e 50% no grupo controle. A severidade da peritonite também foi significativamente maior no grupo pneumoperitônio que no grupo controle ($p < 0,01$). Concluíram que o pneumoperitônio agravou a extensão e severidade da peritonite quando o intervalo entre a perfuração e pneumoperitônio foi maior ou igual a 12 horas.

A possibilidade de agravamento da peritonite, quando da utilização do pneumoperitônio foi estudada por SARE *et al* (69) em 1996. Os autores induziram peritonite com *E. coli* em 30 ratos que após 8 horas foram submetidos a pneumoperitônio, com 5 mmHg, durante 30 minutos ou laparotomia. Houve uma diminuição do número de bactérias no grupo controle entre 8h e 16 horas da contaminação peritoneal ($p < 0,05$), quando comparadas às amostras iniciais. O número de bactérias aumentou quando comparadas na pré-insuflação ($3,96 \pm 0,17$) e pós-insuflação ($4,89 \pm 0,71$) ($p < 0,05$). As diferenças na contagem de leucócitos e pH não foram estatisticamente significativas. Os autores concluíram que a insuflação peritoneal com CO_2 , aumenta a proliferação bacteriana, provavelmente pela inibição dos mecanismos de clareamento bacteriano.

EVASOVICH *et al* (27), em 1996 avaliaram os níveis de bacteremia em 60 ratos submetidos a peritonite induzida por *E. coli* através de coletas seriadas de sangue para hemoculturas, com intervalos de 15 minutos até 180 minutos após o

procedimento- laparotomia ou pneumoperitônio com pressão de 15 mmHg. Nos animais submetidos a pneumoperitônio, os níveis de bacteremia foram significativamente maiores em todos os intervalos de coleta, em relação aos animais não submetidos à insuflação da cavidade abdominal ($p < 0,01$).

O estudo de IPEK *et al* (47), em 1997 corroborou os resultados do estudo anterior. Os autores induziram peritonite em ratos através de cecostomia e obtiveram hemoculturas positivas em 80% dos ratos submetidos a pneumoperitônio, à pressão de 4 a 5 mmHg, durante 30 minutos, 3 horas após cecostomia, contra 20% dos ratos do grupo “controle” não submetidos a pneumoperitônio. ($p < 0,0001$) Concluíram que em ratos, o pneumoperitônio não pode causar peritonite mais severa (análise através de *score* de peritonite e contagem bacteriana), entretanto, induz aumento na bacteremia nas primeiras 6 horas de peritonite.

Apesar de tratar-se de relato isolado, os índices de mortalidade com a utilização da laparoscopia, em modelo experimental de BLOECHLE *et al* (12), em 1999, alerta para a análise criteriosa da utilização da laparoscopia em peritonite, com muitas horas de evolução. Os autores submeteram porcos à gastrostomia, para simular perfuração gástrica. Após 6 ou 12 horas realizou-se o reparo tradicional, ou laparoscópico, da lesão gástrica e lavagem peritoneal. A mortalidade no grupo submetido ao tratamento 12 horas após, foi significativamente maior no grupo laparoscopia (78%) que no grupo laparotomia (22%) ($p = 0,045$).

DUGUE *et al* (25) em 1995 avaliaram os efeitos da insuflação intra-peritoneal em 20 ratos, comparados a grupo controle também com 20 ratos, 24 horas após a abertura do íleo terminal para indução de peritonite e através de hemoculturas colhidas após 1 hora de insuflação peritoneal com 6 mmHg. Os autores não encontraram diferença significativa no resultado das hemoculturas do grupo com e sem insuflação peritoneal ($p = 0,62$).

Outro estudo experimental que dá suporte à utilização da laparoscopia no tratamento das peritonites foi desenvolvido por GURTNER *et al* (35), em 1995, que

induziram peritonite através da inoculação intraperitoneal de colônias de *E. coli* em 18 coelhos e compararam níveis de bacteremia e endotoxemia entre os animais submetidos 1 hora após a inoculação, à laparotomia ou pneumoperitônio (12 mmHg). Os níveis de endotoxina plasmática começaram a aumentar aos 30 minutos da inoculação bacteriana e continuaram aumentando até o final do experimento em ambos os grupos inoculados, sem diferença ($p= 0,181$). Os níveis de bacteremia no grupo laparotomia e pneumoperitônio, foram significativamente maiores ($p<0,01$) que no grupo pneumoperitônio sem peritonite. Não houve diferenças nos efeitos fisiológicos adversos, bacteremia e endotoxemia nos animais submetidos a laparotomia e pneumoperitônio, em vigência de peritonite, na análise realizada 6 horas após os procedimentos.

JACOBI *et al* (50) em 1997, pesquisaram a influência do pneumoperitônio com pressão de 10 mmHg durante 30 minutos e laparotomia, na formação de abscessos, além de bacteremia e endotoxemia. Sessenta ratos, no total, foram submetidos a peritonite induzida por inóculo fecal. Bacteremia e endotoxemia foram maiores nos ratos submetidos à laparotomia 1 hora após a intervenção cirúrgica, quando comparados ao grupo controle e laparoscopia. Entretanto, não houve diferença no restante do período pós-operatório. O número de abscessos intra-abdominais foi significativamente maior no grupo laparotomia que nos demais grupos, após 1 semana ($p<0,05$). A localização dos abscessos também variou entre os grupos, com abscessos interalças aparecendo somente no grupo laparotomia. No grupo controle os abscessos mais freqüentes foram os de omento maior e no grupo laparoscopia os abscessos de superfície peritoneal, superfície intestinal e parede abdominal predominaram. Os autores acreditaram que a diferença nos índices de endotoxemia precoce, maiores no grupo laparotomia, devem-se provavelmente a bacteremia transitória de bactérias aeróbicas, cujo crescimento seria inibido pelo pneumoperitônio e exacerbado pela incisão abdominal e conseqüente lesão de vasos sangüíneos.

Os efeitos benéficos da laparoscopia, quanto à resposta inflamatória ao trauma cirúrgico, foram o motivo do estudo de IWANAKA *et al* (49) em 1997, que

submeteram camundongos imaturos a pneumoperitônio com pressão de 1 a 3 mmHg, suspensão da cavidade sem gás ou laparotomia, todos os procedimentos com duração de 30 minutos. O número e viabilidade dos macrófagos em cada grupo foram comparados. A produção *in vitro* de óxido nítrico e fator de necrose tumoral alfa por estes macrófagos também foi analisada, como marcador de estresse pós-operatório. No grupo laparotomia houve diminuição na viabilidade e número de macrófagos 4 horas após a cirurgia, sendo que, 24 horas após a cirurgia a produção macrofágica de óxido nítrico e fator de necrose tumoral alfa estavam significativamente aumentadas neste grupo, em relação aos demais. Concluiu-se que o estresse pós-operatório evidenciado pela diminuição na viabilidade macrofágica e no aumento de produção de citocinas é maximizado após a laparotomia e que a laparoscopia apresenta efeitos fisiológicos benéficos.

Os resultados anteriores foram corroborados por BALAGUE *et al* (5) em 1999, que dividiram 360 camundongos em 4 grupos: controle, laparotomia, laparoscopia com pneumoperitônio e laparoscopia através de suspensão da parede abdominal e inocularam suspensão de *E. coli* para induzir contaminação. Amostras de sangue e líquido peritoneal foram obtidas 1.5, 3, 24 e 72 horas após a cirurgia e foram medidos TNF, IL-1, IL-6. O número de unidades formadoras de colônia no líquido peritoneal e amostras de sangue e níveis de IL-1 e IL-6 no líquido peritoneal foram significativamente menores após 24 e 72 horas no grupo laparoscopia. Os autores concluíram que a laparoscopia determina menor trauma e preserva melhor a resposta peritoneal à sepse que a laparotomia.

PALOMBO *et al* (62) em 1999, preocupados quanto à efetividade da irrigação peritoneal por laparoscopia e utilização do pneumoperitônio, em vigência de choque endotóxico ou insuficiência cardíaca, dividiram 24 porcos em 2 grupos: controle e indução de peritonite através de inoculação de *E. coli*. Vinte e quatro horas após submeteram todos os porcos a irrigação peritoneal por laparoscopia ou laparotomia, realizando a reavaliação em 48 horas. Dentro de 24 horas os porcos sépticos apresentaram alcalose, alteração do leucograma e infecção do líquido peritoneal por *E.coli*. A resposta cardiopulmonar foi similar em ambos os grupos.

Laparoscopia e laparotomia apresentaram a mesma efetividade no tratamento de porcos com peritonite por *E. coli*, sem choque séptico ($p < 0,05$).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

Escolheram-se como indicadores as avaliações de bacteremia e população bacteriana intra-peritoneal, antes e após os procedimentos de pneumoperitônio com dióxido de carbono e laparotomia associados à irrigação intra-abdominal com solução salina isotônica.

Foram adotadas as Normas para Apresentação de Trabalhos Científicos da Universidade Federal do Paraná (1995), Normas para Referências Bibliográficas de Títulos e Periódicos da Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR-6023-1989), Nomina Anatômica Veterinária (1983), bem como os Princípios Éticos na Experimentação Animal, propostas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA-1995).

TABELA 01 – DEMONSTRATIVO DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

GRUPOS ESTUDADOS	Nº	DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS
Peritonite	10	- Inoculação com suspensão fecal via I.P.;
		- 12 horas após coletadas amostras T1;
Peritonite, pneumoperitônio e irrigação intra-abdominal	10	- 5 horas após T1, coletadas amostras T2.
		-
Pneumoperitônio	10	- Inoculação com suspensão fecal via I.P.;
		- 12 horas após, coletadas amostras T1;
Peritonite, laparotomia e irrigação intra-abdominal	10	- Indução de pneumoperitônio (10mmHg-CO ₂) (com concomitante irrigação intra-abdominal);
		- 5 horas após T1, coletadas amostras T2;
Laparotomia	10	- Inoculação com SSI via I.P.;
		- 12 horas após, coletadas amostras T1;
Normais (Controle)	10	- Indução de pneumoperitônio (10mmHg-CO ₂) concomitante irrigação intra-abdominal;
		- 5 horas após T1, coletadas amostras T2.
Laparotomia	10	- Inoculação com suspensão fecal via I.P.;
		- 12 horas após coletadas amostras T1;
Normais (Controle)	10	- Laparotomia com concomitante irrigação abdominal;
		- 5 horas após T1, coletadas amostras T2.
Laparotomia	10	- Inoculação com SSI via I.P.;
		- 12 horas após, coletadas amostras T1;
Normais (Controle)	10	- Laparotomia com concomitante irrigação intra-abdominal;
		- 5 horas após T1, coletadas amostras T2;
Normais (Controle)	10	- Ratos normais;
		- Coletadas amostras T1;
Normais (Controle)	10	- 5 horas após T1, coletadas amostras T2.
		-

T1: Primeira coleta de amostras. T2: Segunda coleta de amostras. I.P.: Inoculação

3.2 ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados 60 ratos albinos machos, (*Rattus norvegicus*, *Rodentia*, *mammalia*, da linhagem *Wistar*) provenientes do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná, com pesos variando entre 276 a 290g. Os animais foram alojados em grupos de 5, em caixas de polipropileno, à temperatura ambiente entre 20 a 24°C, umidade relativa do ar de 50 a 60%, recebendo água e ração específica para a espécie (*Nuvilab® CR1*, *Nuvital*), *ad libitum*, durante 15 dias, para adaptação às condições laboratoriais.

3.3 INDUÇÃO DE PERITONITE

3.3.1 Preparação do Inoculo Fecal (Anexo 01)

- Foram pesadas 100g de fezes humanas em copo de Becker esterilizado;
- Adicionou-se 500ml de SSI;
- Agitou-se com agitador magnético por 1 hora até a completa solubilização do material fecal;
- O material foi então filtrado;
- O conteúdo filtrado foi passado para proveta esterilizada;
- Aferiu-se volume final para 1.000ml com SSI;
- Alíquotas foram realizadas em frascos esterilizados com tampa de borracha lacrada;
- O material utilizado foi descartado em sacos plásticos para posterior autoclavação.

3.3.2 Controle Microbiológico da Suspensão Fecal (Anexo 2)

Empregado para a quantificação do conteúdo bacteriano aeróbico e anaeróbico total da suspensão fecal obtida. Utilizou-se o método de diluição e contagem em placas.

Os tubos de meios de cultura (Agar BHI) foram fundidos e mantidos em banho-maria a 50°C.

- A suspensão fecal foi diluída de modo a obter as diluições de 10^{-1} a 10^{-10} ;
- Distribuiu-se com pipeta automática 1ml de cada diluição em 10 placas de Petri esterilizadas;
- Distribuiu-se 15ml de BHI fundido em cada placa, homogeneizou-se e aguardou-se a sua solidificação;

- Identificou-se a série de placas e incubou-se em estufa a 37°C por 24 horas;
- Preparou-se nova série de placas, identificando-se e incubando-se em jarra anaeróbica sob tensão de CO₂ a 37°C por 4 dias;
- Ao término dos períodos de incubação, foram retiradas as placas da estufa, contando-se unidades formadoras de colônias presentes em cada placa e multiplicando-se pela diluição correspondente para obter o número de UFC (unidades formadoras de colônias)/ml.

3.3.3 Inoculação dos Animais

- Os ratos foram anestesiados com éter sulfúrico em cuba plástica;
- Degermou-se a pele e pêlos da região abdominal com algodão embebido em álcool 90°GL;
- Inoculou-se por via intra-peritoneal 0,5ml da suspensão fecal controlada, no quadrante inferior direito de cada rato;
- Os animais foram remetidos em grupos de 5, às caixas com cepilho e identificados;
- A hora da inoculação foi anotada em cada um dos grupos de 10 ratos;
- Para os grupos pneumoperitônio e laparotomia e a inoculação foi procedida da mesma forma, inoculado em vez de suspensão fecal, 0,5ml de SSI esterilizada.

FIGURA 1 – INJEÇÃO INTRA-PERITONEAL DO INÓCULO FECAL

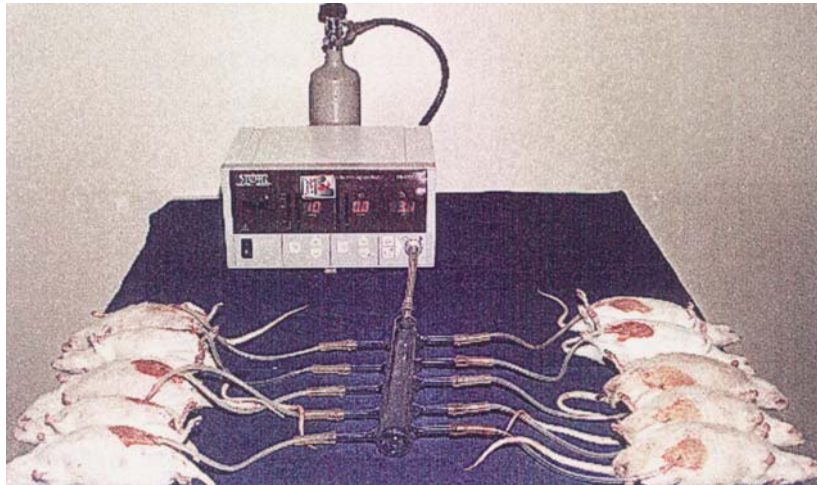


3.4 INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO E IRRIGAÇÃO INTRA-ABDOMINAL

- Doze horas após a indução da peritonite, os animais foram anestesiados com Hidrato de Cloral a 10% intra-peritoneal na dose $300\text{mg}/\text{kg}^{-1}$;
- A região abdominal dos animais foi degermada com polivinilpirrolidona-iodo (Povidine®, Darrow);
- A primeira amostra de sangue (T1) por punção intra-cardíaca (2ml);
- O acessório distribuidor de CO_2 foi conectado ao insuflador conforme HAJAR (37);
- O insuflador foi regulado para a vazão de 50 a 100ml de dióxido de carbono por minuto;
- A pressão foi regulada a 10mmH;
- As agulhas 40x12mm foram conectadas aos terminais do acessório distribuidor;
- A primeira amostra do líquido intra-peritoneal (T1), foi coletada através da inoculação de 10ml de solução salina e aspiração de pelo menos 7ml do líquido peritoneal;
- Procedeu-se a punção abdominal e iniciou-se pneumoperitônio;

- Os animais foram mantidos por 60 minutos, sob temperatura constante e respiração espontânea. Para o grupo de animais a serem irrigados, inoculou-se 10ml de solução salina isotônica e aspirou-se o conteúdo de forma lenta, realizando-se este procedimento duas vezes através de agulhas diferentes;
- Foi desligado o insuflador;
- Os terminais do distribuidor das agulhas introduzidas no abdômen dos animais foram desconectados;
- Comprimiu-se o abdome suavemente para despressurizá-lo;
- Retiraram-se as agulhas insufladoras.

FIGURA 2 – INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO



3.5 LAPAROTOMIA E IRRIGAÇÃO INTRA-ABDOMINAL

- Doze horas após a indução da peritonite, foram anestesiados os animais com Hidrato de Cloral a 10% na dose de $300\text{mg}\text{kg}^{-1}$ intra-peritoneal;
- A região abdominal foi submetida à tricotomia e degermação com polivinilpirrolidona-iodo-Povidine;
- Coletou-se a primeira amostra de sangue (T1);
- A laparotomia foi iniciada através de incisão mediana, estendendo-se por 2 a 3 cm, a partir do apêndice xifóide;
- Realizou-se a diérese do plano músculo-aponeurótico e posteriormente a diérese do peritônio;
- Coletou-se a primeira amostra de líquido peritoneal (T1), através da inoculação de 10ml de solução salina e aspiração de 7ml de líquido peritoneal.;
- Para o grupo de animais a serem submetidos a irrigação peritoneal, procedeu-se utilizando-se 10ml da mesma solução salina isotônica 0,9%, pré-aquecida a 37°C , aspirando-se na seqüência o conteúdo lentamente. O procedimento foi realizado por duas vezes consecutivas;
- Foi mantida a cavidade abdominal aberta, durante 60 minutos;

- A síntese da parede abdominal foi realizada com sutura contínua, em plano único, com fio de poligalactina (Vicryl 3.0)®.

3.6 COLETA DE AMOSTRAS (Anexo 5)

3.6.1 Coleta de Sangue

FIGURA 3 – COLETA DE AMOSTRA DE SANGUE



Com animal anestesiado através de inoculação intra-peritoneal de Hidrato de Cloral – T1 (300mg.Kg^{-1}) ou de inalação de éter sulfúrico – T2:

- A pele da região torácica foi degermada com algodão embebido em álcool 90°GL;
- O tórax do animal foi puncionado na posição em que se percebia os batimentos cardíacos;
- Aspirou-se sangue com seringas e agulhas heparinizadas até o volume de 2ml.

3.6.2 Coleta de Lavado Intra-Abdominal

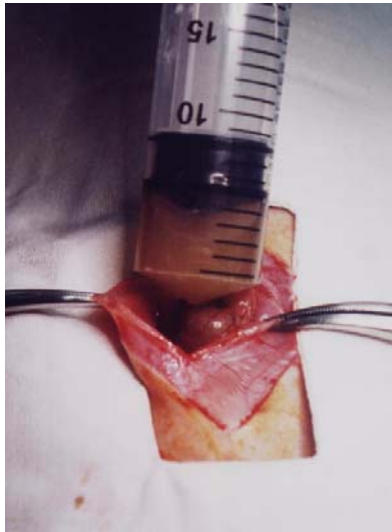
Com o animal anestesiado através de inoculação intra-peritoneal de Hidrato de Cloral – T1 (300mg.kg⁻¹) ou de inalação de éter sulfúrico – T2:

- A pele e os pêlos da região abdominal foram degermadas;
- Foi puncionado o abdome e inoculou-se 10ml de SSI e aspirou-se o conteúdo, no mínimo 7ml, logo após a abertura da cavidade abdominal, no grupo laparotomia.

-

Para as coletas em T2:

- Em todos os grupos processou-se laparotomia através de incisão mediana ampla;
- Realizou-se diérese por planos;
- Realizou-se a inspeção da cavidade peritoneal, observando-se os sinais de peritonite aguda, nos grupos submetidos a indução prévia de peritonite;
- Procedeu-se a coleta de amostra do líquido peritoneal, através da irrigação de 10ml de SSI e aspiração do conteúdo, aspirando-se no mínimo 7ml;
- Procedeu-se a eutanásia em todos os animais através da inalação letal de éter sulfúrico.

FIGURA 04 – COLETA DO LAVADO PERITONEAL**A: POR LAPAROTOMIA****B: POR PUNÇÃO ABDOMINAL****3.7 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBICAS (Anexo 7)**

Empregado para a quantificação do conteúdo bacteriano aeróbico das amostras de sangue e lavado peritoneal. Utilizou-se o método de diluição e contagem em placas.

- Fundiu-se os tubos de meios de cultura e que foram mantidos em banho-maria a 50°C;
- Diluiu-se a amostra de sangue ou lavado peritoneal, de modo a obter as diluições de 10^{-1} a 10^{-7} ;
- Distribuiu-se com pipeta automática 1ml das diluições 10^{-2} até 10^{-6} em placas de Petri esterilizadas;
- Distribuiu-se 15ml de BHI fundido em cada placa, procedendo-se a homogeneização e aguardou-se a solidificação;
- A série de placas foram identificadas e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas;
- Ao término dos períodos de incubação, retirou-se as placas da estufa, contou-se as unidades formadoras de colônias presentes em cada placa

e multiplicou-se pela diluição correspondente para obter o número de UFC/ml.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS (Anexo 8)

Foram comparadas as quantidades de bactérias aeróbicas em sangue e lavado peritoneal entre os grupos de animais. Obtiveram-se as médias aritméticas destas contagens por grupo de animais, calculados os desvios-padrão e intervalos de confiança (95%). Após a obtenção dos intervalos de confiança, foram calculados pelo método de *Kuskal-Wallis* os valores de “P” entre estes, estabelecendo como limite mínimo de significância para rejeição da hipótese nula de que não houvesse diferença estatística entre os referidos intervalos, valores maiores ou iguais a 0,05.

Assim sendo, procederam-se comparações entre os seguintes grupos:

TABELA 2 – DEMONSTRATIVO DOS GRUPOS COMPARADOS E AS HIPÓTESES A SEREM COMPROVADAS ESTATISTICAMENTE

GRUPOS COMPARADOS	HIPÓTESES VERIFICADAS
Peritonite X Normal	Se em vigência de peritonite fecal ocorre bacteremia;
Peritonite X Pneumoperitônio	Se o pneumoperitônio mais irrigação alteram os níveis de bacteremia em vigência de peritonite fecal;
Peritonite X Laparotomia	Se a laparotomia mais irrigação alteram os níveis de bacteremia em vigência de peritonite fecal;
Pneumoperitônio X Laparotomia	Se existe diferença entre os efeitos dos métodos nos níveis de bacteremia em vigência de peritonite fecal;
Normal X Pneumoperitônio	Se pneumoperitônio altera os níveis de bacteremia em ratos normais (Controle);
Normal X Laparotomia	Se laparotomia altera os níveis de bacteremia em ratos normais (Controle).

4 RESULTADOS

Não houve mortalidade nos animais submetidos à indução de peritonite, nem após os procedimentos de laparotomia ou pneumoperitônio. O inóculo fecal utilizado apresentou 146×10^5 UFC/ml de bactérias aeróbicas e 87×10^3 UFC de bactérias anaeróbicas por mililitro. A contagem total de bactérias aeróbicas nas amostras coletadas em T1 não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em todos os grupos estudados quando comparados os grupos submetidos previamente à indução de peritonite. Os achados clínicos na cavidade peritoneal em T1, observados somente no grupo laparotomia consistiam em presença de líquido sero-purulento livre, em pequena a moderada quantidade, hiperemia em camada serosa peritoneal e de alças de delgado e abscessos em formação e aderências. Contudo, a inspeção da cavidade em T2 demonstrou ainda achados que confirmaram a persistência do processo infeccioso intra-peritoneal. Os valores de p entre os grupos avaliados encontram-se na tabela 05.

FIGURA 5 – ASPECTO DA CAVIDADE ABDOMINAL APÓS 12 HORAS DE INDUÇÃO DE PERITONITE

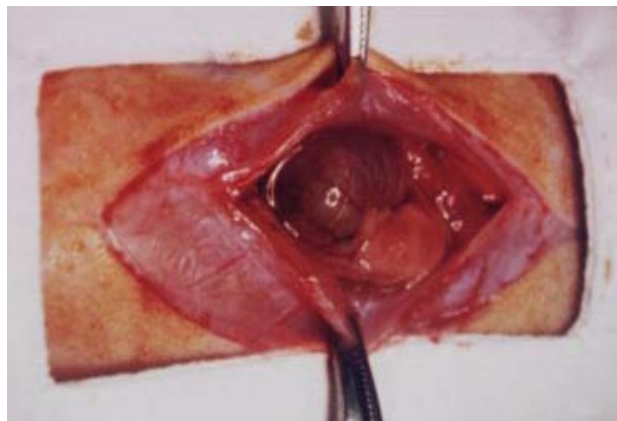


TABELA 03 - DEMONSTRATIVO DOS LIMITES DE VARIAÇÕES (95%) DAS CONTAGENS TOTAIS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS (UFC/ML) NAS AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL DOS ANIMAIS ESTUDADOS ANTES E APÓS LAPAROTOMIA E PNEUMOPERITÔNIO (T1 E T2)

GRUPO	T1			T2		
	LS	M	LI	LS	M	LI
Peritonite	62,16	50,40	38,63	59,80	54,30	48,80
Peritonite + Pneumoperitônio	59,46	52,30	45,14	26,39	20,30	14,21
Pneumoperitônio	0	0	0	0	0	0
Peritonite + Laparotomia	60,04	51,10	42,16	25,61	19,60	13,59
Laparotomia	0	0	0	0	0	0
Normais	0	0	0	0	0	0

LS: limite superior; M: média aritmética; LI: limite inferior

GRÁFICO 01 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T1 EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL

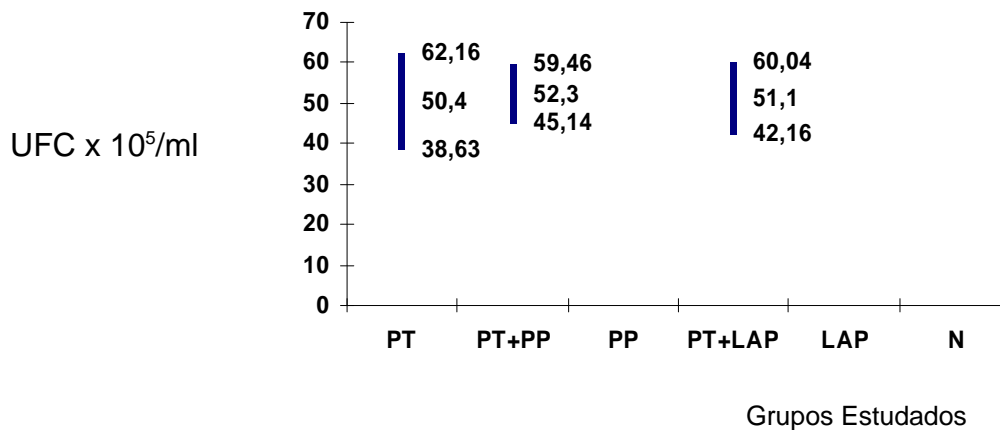


GRÁFICO 02 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T2 EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL

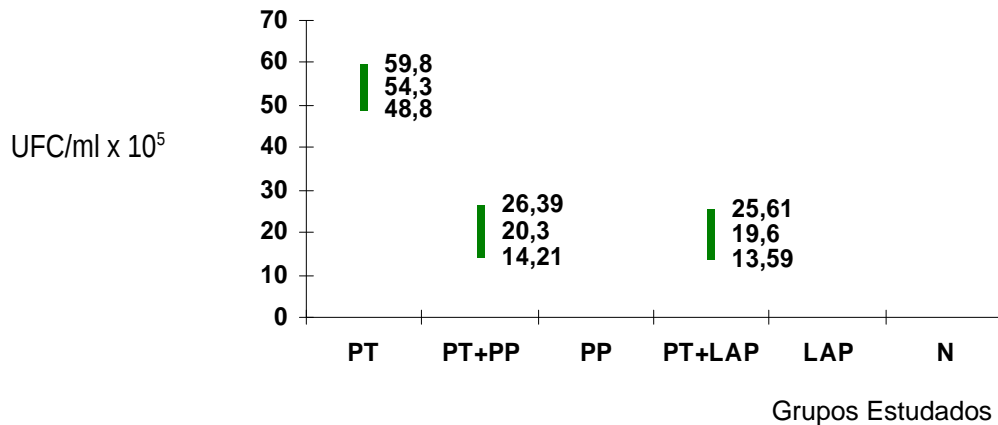
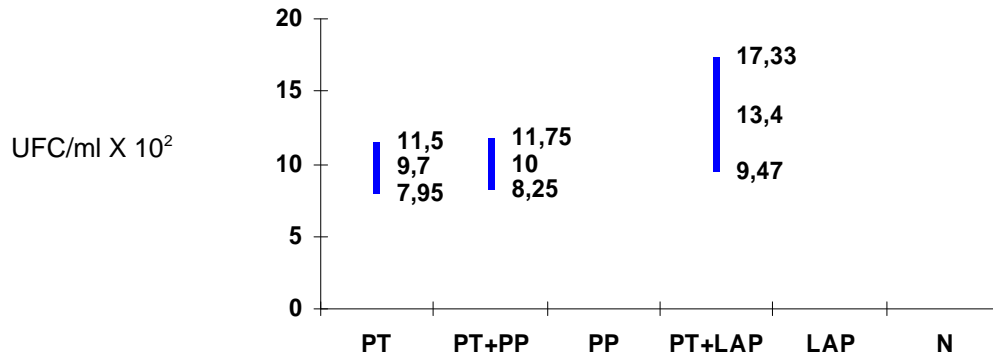


TABELA 04 - DEMONSTRATIVO DOS LIMITES DE VARIAÇÕES (95%) DAS CONTAGENS TOTAIS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS (UFC/ML) NAS AMOSTRAS DE SANGUE DOS ANIMAIS ESTUDADOS ANTES E APÓS LAPAROTOMIA E PNEUMOPERITÔNIO (T1 E T2)

GRUPO	T1			T2		
	LS	M	LI	LS	M	LI
Peritonite	11,5	9,7	7,95	17,84	14,3	10,76
Peritonite + Pneumoperitônio	11,75	10	8,25	10,05	6,80	3,55
Pneumoperitônio	0	0	0	0	0	0
Peritonite + Laparotomia	17,33	13,4	9,47	7,78	5	2,22
Laparotomia	0	0	0	0	0	0
Normais	0	0	0	0	0	0

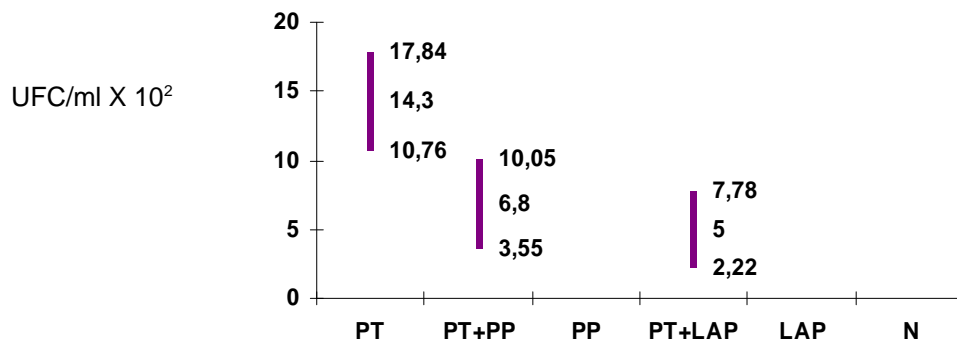
LS: limite superior; M: média aritmética; LI: limite inferior

GRÁFICO 03 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T1 EM AMOSTRAS DE SANGUE



Grupos Estudados

GRÁFICO 04 - DEMONSTRATIVO DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA (95%) ENTRE AS CONTAGENS DE BACTÉRIAS AERÓBICAS NO T2 EM AMOSTRAS DE SANGUE



Grupos Estudados

Nas amostras de líquido peritoneal coletadas em T2, houve diferenças estatisticamente significativa na contagem de bactérias aeróbicas quando comparados os grupos de animais submetidos a pneumoperitônio e laparotomia com irrigação da

cavidade abdominal ao grupo peritonite. Não houve diferença estatisticamente significativas nas contagens de bactérias aeróbicas de líquido peritoneal quando comparados os grupos pneumoperitônio e laparotomia, entre si.

Nas amostras de sangue coletadas em T2 observou-se número de colônias de bactérias aeróbicas significativamente maiores no grupo pneumoperitônio quando comparado ao grupo laparotomia, ambos com irrigação da cavidade abdominal após evolução de peritonite fecal por 12 horas.

TABELA 05 - DEMONSTRATIVO DOS VALORES DE SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (P) ENTRE OS GRUPOS DE ANIMAIS ESTUDADOS, CONFORME OS PROCEDIMENTOS REALIZADOS E AMOSTRAS AFERIDAS

TEMPO	AMOSTRAS	GRUPOS COMPARADOS	VALORES DE P
T1	Lavado Peritoneal	PT X PT+PP	1
		PT X PT+LAP	0,942010493
		PT+PP X PT+LAP	0,908384091
	Sangue	PT X PT+PP	0,784571124
		PT X PT+LAP	0,111612612
		PT+PP X PT+LAP	0,050496829
T2	Lavado Peritoneal	PT X PT+PP	$6,09605 \times 10^{-7}$
		PT X PT+LAP	$4,98602 \times 10^{-5}$
		PT+PP X PT+LAP	0,828256987
	Sangue	PT X PT+PP	0,00533755
		PT X PT+LAP	0,003584338
		PT+PP X PT+LAP	0,0033217

5 DISCUSSÃO

5.1 DO MODELO ANIMAL

A experimentação animal faz parte da cultura humana desde tempos imemoriais. Sabe-se que desde épocas remotas os animais têm servido para testar situações em que a vida humana poderia estar em risco.

Não sendo oportuno neste momento, abordar questões filosóficas, não é possível ignorar que terá sido esta, talvez, a razão pela qual todas as espécies vivas tenham sido consideradas como inferiores. Este posicionamento tranquilizador foi, no entanto, abalado a partir do século XIX, quando foi estabelecido, pela primeira vez um código de proteção aos animais, em 1871, com a adoção de princípios básicos de experimentação animal pela *British Association for the Advancement of Science* e em 1876 ***Cruelty to Animals Act*** pela *Royal Commission*.

Este movimento permeou-se na comunidade científica internacional em 1959, quando Willian Russel e Rex Burch publicaram *The Principles of Human Experimental Technique*, introduzindo o conceito dos 3 R's.

Replacement, Reduction & Refinement foi a trilogia introduzida onde pretendiam trazer maior “humanismo” às técnicas de experimentação. Nas palavras dos autores ***“Replacement means the substitution for concious living higher animals of insentient material. Reduction means reduction in the numbers of animals used to obtain information of given amount and precision. Refinement means any decrease in the incidence or severity of inhumane procedures applied to those animals which still have to be used”***.

O que se dispõe no Brasil como normativa em experimentação animal são os PRINCÍPIOS ÉTICOS NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, editados pelo Colégio Brasileiro em Experimentação Animal - (COBEA) em 1991, os quais preconizam que o progresso dos conhecimentos humanos, notadamente os referentes à biologia, à

Medicina humana e dos animais é necessário. O homem precisa utilizar os animais na busca de conhecimento, para se nutrir, se vestir e trabalhar. Assim, ele deve respeitar o animal, seu auxiliar, como um ser vivente como ele. Entre os principais aspectos abordados por este conjunto de princípios, ressaltam-se: Todas as pessoas que praticam a experimentação biológica devem tomar consciência de que o animal é dotado de sensibilidade, de memória e que sofre sem poder escapar à dor.

O experimentador é moralmente responsável por suas escolhas e por seus atos na experimentação animal. Procedimentos que envolvam animais devem prever e se desenvolver considerando-se sua relevância para a saúde humana ou mais, a aquisição do conhecimento ou o bem da sociedade (38). Como medidas éticas no manejo deste modelo experimental foram atendidos os seguintes aspectos: ambiente de experimentação e manutenção dos animais sob temperatura controlada e trocas de ar equivalentes a 20 vezes o volume ambiental por hora. Iluminação equivalente a 500 *Lux* a 70 cm do piso, Inoculações, punções e procedimentos cirúrgicos sob anestesia, bem como a eutanásia por inalação letal com éter sulfúrico e para evitar a mortalidade por hipotermia, durante as execuções de pneumoperitônio e laparotomia, os animais foram mantidos sob aquecimento controlado.

Embora já se tenha utilizado outras espécies de animais em pesquisa com pneumoperitônio como cães (48), coelhos (35) e porcos (54,63), optou-se neste estudo pela utilização do rato (*Rattus norvegicus*), por ser um animal de pequeno porte, possível obtenção em nosso meio, fácil acomodação, alimentação e manejo que permitem entre outras vantagens, amostras estatisticamente adequadas que proporcionam maior precisão às aferições estatísticas. Em face de estes fatores, é o rato, o animal mais citado na literatura em pesquisas com indução de pneumoperitônio (9,26,27,47,50,69) e peritonite (11,23,25,26,27,36,47,50,69).

5.2 DO MODELO DE INDUÇÃO DA PERITONITE

Alguns dos muitos modelos experimentais de peritonite são limitados por dificuldades técnicas e dificuldade de reprodução do método (7).

Desvascularização, ruptura ou perfuração de segmento intestinal, simulando estrangulamento vascular ou infecção transmural apresentam algumas desvantagens: mortalidade devido a anestesia e trauma da operação, gravidade da peritonite dependente do conteúdo intestinal no momento da ruptura ou da perfuração, preferencialmente aplicáveis a animais de grande porte, com conseqüente dificuldade na padronização da amostra e uso limitado pelo custo e legislação.

A utilização de cultura pura de bactérias permite o exato controle sobre o número e espécie das bactérias utilizadas, contudo, apresenta como grande limitante o estabelecimento do número de colônias que induzem peritonite não fatal, pois, o desequilíbrio leva a peritonite rapidamente fatal ou não induz peritonite (34), além de não simular fielmente as condições da peritonite humana (2).

Na literatura consultada, os modelos utilizados para indução de peritonite em vigência de pneumoperitônio foram: cecostomia (47), úlcera gástrica perfurada (11,12,62), inóculo de *Escherichia coli* (5,27,35,69), abertura do íleo terminal (25), inóculo polibacteriano com sulfato de bário e fezes esterilizadas (55), inóculo fecal sem irrigação peritoneal (50).

Neste modelo experimental a peritonite foi induzida através de inóculo fecal humano, por ser facilmente exequível, polimicrobiano e por determinar peritonite não fatal, dependente da carga infectiva do inóculo, além de ser um dos modelos mais próximos da peritonite fecal humana (50,51). A eficácia do modelo foi plenamente comprovada, haja vista os achados clínicos na avaliação da cavidade abdominal e laboratoriais, pelas análises microbiológicas do conteúdo infectante, do líquido peritoneal e das amostras de sangue. A quantidade de bactérias presentes no

inóculo fecal para indução de peritonite foi de 146×10^5 UFC/ml de bactérias aeróbicas e 87×10^3 UFC de bactérias anaeróbicas por mililitro. Na tabela 5, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre as contagens de bactérias aeróbicas totais em sangue ou líquido peritoneal, nos animais induzidos com peritonite, o que comprova estatisticamente a similaridade na indução da peritonite entre os grupos estudados.

5.3. DO MODELO DE INDUÇÃO DO PNEUMOPERITÔNIO

Ascite, oclusão intestinal, sangramento intra ou retroperitoneal e trauma abdominal são algumas das situações clínicas bem conhecidas de aumento da pressão intra-abdominal. Atualmente, a causa iatrogênica determinada pelo pneumoperitônio na cirurgia laparoscópica, é a mais estudada. Pressão intra-abdominal aumentada, independente do mecanismo, pode levar à Síndrome Compartimental, com conseqüente isquemia da parede abdominal e vísceras (23,45,52,64,71,81). O nível de pressão intra-abdominal para o aparecimento dos efeitos hemodinâmicos é controverso na literatura. Em ratos, pressão de pneumoperitônio de 15 mmHg determinou translocação bacteriana, isquemia e reperfusão intestinal, com conseqüente liberação de radicais livres de oxigênio, sabidamente mediadores de lesão tissular (10,26,33). Ocasionalmente também, depressão respiratória, baixo débito cardíaco, podendo levar a choque circulatório e acidose respiratória, geralmente fatais em ratos, pela dificuldade em se proceder a intubação endotraqueal e respiração assistida (53). Em cães, pressão de 16 mmHg resultou em hipofluxo venoso porta e da artéria mesentérica superior (48).

Neste estudo, utilizou-se a pressão intra-abdominal de 10 mmHg, servindo-se dos resultados determinados por BERGUER *et al.*(9), que avaliaram as alterações decorrentes da pressão intra-abdominal de ratos, sob insuflação de CO₂ com pressões de 2,5, 10 e 15 mmHg. Estes autores verificaram as variações de pressão e pH do sangue arterial, pCO₂, pO₂ e bicarbonato, além do débito cardíaco e temperatura sangüínea, a partir destes resultados, puderam propor que a pressão

intra-abdominal adequada, para se manter ratos em respiração espontânea, deve ser menor ou igual a 10 mmHg. Este modelo de indução de pneumoperitônio baseou-se na proposta de HAJAR (37), que aplicou o mesmo acessório distribuidor de CO₂ o que propiciou a insuflação de CO₂ simultaneamente em 20 ratos, sempre nas mesmas condições pressóricas intra-abdominais, com o propósito de avaliar translocação bacteriana, a qual foi detectada tanto com 1h como em 3h de indução de pneumoperitônio em modelo de colite induzida.

5.4 DO PNEUMOPERITÔNIO EM VIGÊNCIA DE PERITONITE

Vários modelos experimentais comprovaram o benefício da irrigação peritoneal em animais submetidos à peritonite: significativo aumento da sobrevida em cães, quando da irrigação da cavidade peritoneal dentro de 15 minutos após inoculação fecal (3, 44). Trinta e cinco por cento de sobrevida em cães submetidos à irrigação peritoneal em peritonite induzida por alça ileal avascular isolada versus 100% de óbito, no grupo controle submetido somente a hidratação endovenosa (66,67). Aumento da sobrevida em ratos quando a irrigação foi realizada dentro de 8 horas da indução da peritonite (74).

Por ser a irrigação peritoneal, método auxiliar de rotina no tratamento de pacientes com peritonite em nosso meio e pela dificuldade freqüente em se realizar a completa limpeza mecânica da cavidade abdominal, mesmo sob visão direta pela laparoscopia, optou-se neste modelo experimental pela irrigação da cavidade abdominal, às cegas, com 20 ml solução salina isotônica 0,9% (17,18), em temperatura de 37°C.

Neste estudo experimental a irrigação peritoneal, mesmo às cegas, no grupo pneumoperitônio determinou redução da população bacteriana intra-peritoneal similar à irrigação por laparotomia ($p=0,8282$). A bacteremia foi reduzida sem diferença significativa, entre os grupos irrigação por laparotomia e em vigência de pneumoperitônio. Ao serem comparados os grupos anteriores com o grupo peritonite

sem irrigação peritoneal, obtiveram-se os seguintes valores de significância: ($p=0,0000498$) e ($p=0,000000609$), respectivamente. Entretanto, o pneumoperitônio por 60 minutos, com dióxido de carbono, à pressão constante de 10 mmhg, determinou maiores índices de bacteremia que a laparotomia ($p=0,003$).

Este resultado é corroborado pelo estudo de BLOECHLE e colaboradores (11), que utilizando modelo de gastrostomia para indução de peritonite, com o mesmo intervalo entre indução e procedimento e mesmo tempo de eutanásia que no presente estudo, obteve significativo aumento da bacteremia no grupo pneumoperitônio em relação ao grupo controle. Obtiveram, porém, piora nos níveis de contaminação peritoneal no grupo pneumoperitônio, em relação ao grupo controle.

A possível explicação para o aumento da contaminação peritoneal, naquele estudo, pode deter-se no fato de se tratar de modelo diferente de indução de peritonite, com provável flora bacteriana diversa. Os mesmos autores, utilizando gastrostomia em porcos, como modelo de peritonite, obtiveram mortalidade significativamente maior no grupo submetido a correção da úlcera perfurada por laparoscopia e irrigação peritoneal 12 horas após a gastrostomia, em relação ao grupo tratado com reparo tradicional da úlcera e irrigação (12). A mortalidade no grupo 6 horas após, foi similar entre os grupos.

IPEK *et al* (47), em modelo de indução de peritonite fecal, encontraram exatamente, os mesmos resultados deste estudo: piora da bacteremia, sem agravamento da peritonite, em vigência do pneumoperitônio. EVASOVICH *et al* (27), estudando 60 ratos, induzidos com peritonite por inóculo de *E. coli* em vigência de pneumoperitônio com 15 mmHg, coletaram sangue para hemoculturas a cada 15 minutos até o limite de 180 minutos. Nos animais do grupo pneumoperitônio tiveram maior índice de hemoculturas positivas em todos os intervalos de coleta ($p<0,01$), quando comparados a grupo não induzido com pneumoperitônio. Não houve comparação nesse trabalho ao grupo laparotomia.

O aumento nos índices de bacteremia encontrados nos estudos relatados, incluindo o presente, podem ser conseqüentes a vários fatores: O aumento da pressão intra-abdominal pode determinar aumento na absorção linfática peritoneal, pelo incremento no número e patência de orifícios dos linfáticos chamados *stomata*, localizados entre as bordas laterais das células mesoteliais peritoneais. O material absorvido pelos *stomata* drena para linfáticos terminais localizados na superfície peritoneal do diafragma chamados, *lacunae* (20). Da *lacunae* o material é então transportado ao sistema venoso, através do ducto torácico principal (80,82).

Além disso, inflamação pode causar contração das células mesoteliais, determinando também maior patência dos *stomata* (47). A migração bacteriana na cavidade peritoneal é estimulada pelo fluxo contínuo do pneumoperitônio podendo determinar aumento da bacteremia (47). O pneumoperitônio parece ser a razão principal para uma diminuição na eliminação de antígenos, no método laparoscópico, conforme determinado por GUTT *et al* (36) que realizando o teste de clareamento do carbono, obtiveram com a utilização do pneumoperitônio, o mais longo tempo de clareamento, em comparação aos outros grupos: laparotomia e laparoscopia sem pneumoperitônio.

Embora no presente estudo não tenha sido feito a avaliação qualitativa das espécies bacterianas durante a contagem de colônias nas amostras de sangue e líquido peritoneal, pode-se supor que não houve incremento na gravidade da peritonite, pela possibilidade do dióxido de carbono ter efeitos bacteriostáticos sobre a *E. coli*, que sempre apresenta fundamental importância por ser uma das mais freqüentes espécies bacterianas na peritonite fecal (32,47).

Outros autores não encontraram, entretanto, piora nos índices de bacteremia em animais submetidos a pneumoperitônio. LINHARES (55), não encontrou incremento na bacteremia, quando comparou lavagem peritoneal por laparoscopia com a lavagem por laparotomia. Entretanto, utilizou inóculo conhecido para a indução da peritonite, aplicou pressão de 12 mmHg individualmente em 20 ratos, por tempo não determinado e as amostras foram coletadas imediatamente após a realização do

procedimento, período este considerado por alguns autores insuficiente para avaliar os efeitos sobre a bacteremia (11,27,47). No presente estudo, optou-se por aguardar 5 horas após os procedimentos de pneumoperitônio e laparotomia associados à irrigação intra-abdominal para a coleta de sangue e líquido intra-abdominal, as quais foram submetidas às avaliações bacteriológicas.

GURTNER *et al* (35) também não encontraram diferenças estatísticas nos índices de bacteremia e endotoxemia, quando compararam grupos de coelhos submetidos a pneumoperitônio e laparotomia em vigência de peritonite por inoculação de *E. coli*. Declararam não ter havido aumento da bacteremia e endotoxemia no grupo pneumoperitônio porque as excursões diafragmáticas completas, supostamente necessárias para o bombeamento da linfa da *lacunae* ao ducto torácico seriam inibidas pelo pneumoperitônio. Contudo, utilizaram inóculo bacteriano único, com pequeno número de animais (18 coelhos), o tempo entre indução da peritonite e realização do procedimento foi de uma hora, provavelmente insuficiente para o estabelecimento de peritonite grave.

Em estudos similares ao presente, com inóculo fecal em ratos, JACOBI *et al* (50,51), não encontraram aumento dos índices de bacteremia e endotoxemia no grupo submetido a pneumoperitônio. Observaram também, significativo aumento no número médio de abscessos intra-peritoneais, uma semana após o procedimento no grupo laparotomia, quando comparado aos grupos controle e pneumoperitônio, o que não foi avaliado, por não ser objetivo do presente estudo.

BALAGUE *et al* (5), avaliaram além do número de unidades formadoras de colônia, níveis de IL-1 e IL-6 peritoneais. Demonstraram níveis significativamente menores nos grupos submetidos à laparoscopia com pneumoperitônio e laparoscopia por suspensão da parede abdominal, em comparação ao grupo submetido à laparotomia, ao analisarem as amostras 24 e 72 horas após o procedimento. Nos grupos 1,5 e 3 horas após o procedimento não encontraram diferenças entre os grupos testados. Utilizaram inóculo exclusivo de *E.coli*, em camundongos e não analisaram grupo com evolução de 12 horas de peritonite. O inóculo exclusivo tem

como fator limitante o fato de não reproduzir fielmente a peritonite fecal, pela falta de sinergismo da flora aeróbica e anaeróbica, sempre presente na infecção polimicrobiana, e que determina entre outros fatores, diferenças nos mecanismos de ativação macrofágica, do complemento e como resultado, diferenças na migração de granulócitos do espaço intra-vascular para a cavidade peritoneal (40).

PALOMBO *et al* (62) comparando porcos submetidos à laparotomia e laparoscopia com irrigação peritoneal com solução salina, demonstraram efetividade igual de ambos os métodos no tratamento da peritonite aguda, na ausência de choque séptico. Porém, porcos sépticos que foram submetidos à laparoscopia, desenvolveram níveis de acidose e hipoxemia significativamente maiores que porcos sépticos submetidos à laparotomia ($p < 0,05$).

Várias séries clínicas têm sido recentemente publicadas relatando os benefícios da laparoscopia no tratamento da peritonite aguda como: mudança no diagnóstico clínico em 25% dos pacientes em média (57), precisão diagnóstica próxima a 100% (46), a laparotomia pode ser evitada em 6,5 (57) a 10% (57) dos casos. Índices de conversão aceitáveis, variando de 1% (6), 8% (24), 12% (21,42), 13% (43) com média de 16 e 25%, nos casos de apendicite aguda e úlcera gastroduodenal perfurada (41), 33% em casos de oclusão intestinal de delgado (4,46), com morbi-mortalidade comparáveis à laparotomia (24) e os já conhecidos benefícios da alta precoce, menor dor pós-operatória e retorno precoce às atividades habituais, mesmo em condições emergenciais (4,42,30,6). Entretanto, também são relatadas desvantagens do método: significativo aumento na incidência de reoperações não planejadas (4), tempo cirúrgico significativamente maior (29,42) e índice de conversão limitante, até de 83%, para alguns procedimentos como em casos de perfuração colônica (57,60).

A laparoscopia terapêutica é um método recente na história da Medicina que trouxe inegável progresso à cirurgia, tem a preferência de médicos e pacientes e por isso, apresenta rápida evolução. Novos instrumentais e a possibilidade de sua utilização sem a necessidade de pneumoperitônio, descritos recentemente, podem

tornar o método mais seguro (76,8,19,58). Muitas questões permanecem ainda sem consenso : qual a resposta das várias espécies bacterianas, de importância clínica ao ambiente com dióxido de carbono? Outras respostas imunológicas pouco conhecidas ou desconhecidas podem ser afetadas pelo pneumoperitônio com dióxido de carbono, resultando em maior risco de disseminação bacteriana? (28,39,78,79,86). Baseado nos resultados deste e de outros estudos experimentais, parece precoce a utilização indiscriminada da laparoscopia com pneumoperitônio, no tratamento das peritonites. Embora não haja consenso que a laparoscopia com pneumoperitônio possa induzir efeitos deletérios na evolução clínica de pacientes com peritonite e os resultados obtidos em modelos animais não sejam perfeitamente transponíveis para humanos, mais estudos experimentais são necessários para a comprovação da efetividade e segurança do método, pois, o pneumoperitônio em determinadas situações pode agravar a bacteremia em relação ao método-padrão, a laparotomia.

6 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados pode-se concluir que:

1. Pneumoperitônio com dióxido de carbono, sob pressão constante de 10 mmHg, durante 60 minutos e laparotomia, ambos, com irrigação da cavidade com Solução Salina Isotônica, determinam diminuição da população bacteriana intra-peritoneal aeróbica, após 5 horas de irrigação peritoneal em vigência de peritonite fecal;
2. Pneumoperitônio com dióxido de carbono à pressão constante de 10 mmHg, durante 60 minutos, determinou níveis de bacteremia maiores que aqueles dos ratos submetidos à laparotomia, ambos, após 5 horas de irrigação peritoneal com Solução Salina Isotônica em vigência de peritonite fecal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLEN, L.; VOGT, E. A mechanism of lymphatic absorption from serous cavities. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v. 119, p. 776-782, 1937.
2. ALTEMEYER, William A. Surgical Infections of the Peritoneum. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, p.437-453, 1942.
3. ARTZ, P. C.; Further studies concerning the pathogenesis and treatment of peritonitis. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.155, p.756- 767, 1962.
4. BAILEY, I. S.; RHODES, M.; O'ROURKE, N.; NATHANSON, L.; FIELDING, G. Laparoscopic management of acute small bowel obstruction. **Brit. J. Surg.**, Guildford, v. 85, n.1, p. 84-87, 1998.
5. BALAGUE, C.; TARGARONA, E. M.; PUJOL, M.; FILELLA, X.; ESPERT, J. J.; TRIAS, M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy and wall lift laparoscopy. **Surg. Endosc.**, New York, v. 13, n. 8, p. 792-796, Aug. 1999.
6. BALIQUE, J.G.; GUINOT, R.; MODESERT, C.; MORTIER, L. Étude comparative rétrospective de 600 appendicectomies effectués par laparotomie (Mac Burney) ou laparoscopie. **Chirurgie**, Paris, v.119, n.9, p.504-510, 1993.
7. BARTLETT, J.G.; ONDERDONK, A. B.; LOVIE, T. A review - Lessons from an animal model of intra-abdominal sepsis. **Arch. Surg.**, Chicago, v.113, p. 853-857, 1978.
8. BENOIT, J.; CRUAUD, P.; LAUROY, J.; BOUTELIER, P.; CHAMPAULT, G. Le traitement laparoscopique des infections abdominales génère-t-il les bactériémies? **J. Chir.**, Paris, v.132, n.12, p. 472-477, 1995.
9. BERGUER, R.; CORNELIUS, T.; DALTON, M.; The optimum pneumoperitoneum pressure for laparoscopic surgery in the rat model. **Surg. Endosc.**, New York, v,11, p. 915-918, 1997.
10. BLAKE, D. R.; ALLEN, R. E.; LUNEC, J. Free radicals in biological systems, a review oriented to inflammatory processes. **Br. Med. Bull.**, London, v. 43, p. 371, 1987.
11. BLOECHLE, C.; EMMERMANN, A ; TREU, H.; ACHILLES, E.; MACK, D.; ZORNIG, C.; BROELSCH, E. Effect of a pneumoperitoneum on the extent and severity of peritonitis induced by gastric ulcer perforation in the rat. **Surg. Endosc.**, New York, v.9, p.898-901, 1995.
12. BLOECHLE, C.; EMMERMANN, A.; STRATE, T.; SCHEURLIN, U.J.; SCHENIDER, R.C.; ACHILLES, E.; WOLF, M.; MACK, D.; ZORNIG, C.; BROELSCH, C. E. Laparoscopic versus open repair of gastric perforation and

- abdominal lavage of associated peritonitis in pigs. **Surg. Endosc.**, New York, v. 12, n.3, p. 212-218, 1999.
13. BORNSIDE, G.H., BOVIS Jr., P. J.; COHN Jr., I. Hemoglobin and Escherichia coli, a lethal intraperitoneal combination. **J. Bacteriol.**, Washington, v. 31, p. 1567-1571, 1968.
 14. BROWNE, M.K.; LESLIE, G.B. Animals models of peritonitis. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 143, p. 730-740, 1976.
 15. BURNET, W.E.; BROWN JR.; ROSEMOND, G. P.; CASWEL, H. T.; BUCHOR, R.B.; TYSON, R.R. The treatment of peritonitis using lavage. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 145, p. 675-682, 1957.
 16. CALDWELL, C. B.; RICOTTA, J. J. Changes in visceral blood flow with elevated intraabdominal pressure. **J. Surg. Res.**, New York, v.43, p.14-20, 1987.
 17. CARIDIS, D. T.; GADDIE, J.; MATHESON, N. A . Peritoneal lavage in peritonitis. **Eur. Surg. Res.**, Basel, v. 1, p. 142-146, 1969.
 18. CARIDIS, D.T.; MATHESON, N.A. Peritoneal lavage in peritonitis: A preliminary evaluation. **B. M. J.**, London, v.2, p.219, 1968.
 19. CHIU, A W.; CHANG, L. S.; BIRKETT, D. H.; BABAYAN, R. K. The impact of pneumoperitoneum, pneumoretroperitoneum and gasless laparoscopy on the systemic and renal hemodynamics. **J. Am. Coll. Surg.**, New York, v. 181, p. 397-406, 1995.
 20. COURTICE, F. C.; MORRIS, B. The effect of diaphragmatic movement on the absorption of protein and red cells from the pleural cavity. **Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.**, v. 31. p. 227-238, 1953.
 21. CUETO, J. DIAZ, O ; GARTEIZ, D.; RODRIGUEZ, M.; WEBER, A . The efficacy of laparoscopic surgery in the diagnosis and treatment of peritonitis. **Surg. Endosc.**, New York, v.11, n.4, p. 366-370, 1997.
 22. CUNNINGHAM, A . J.; Laparoscopic surgery-anesthetic implications. **Surg. Endosc.**, New York, v. 8, p. 1272-1284, 1994.
 23. DIEBEL, L. N.; DULCHAVSKY, S. A ; BROWN, W. J.; Splanchnic Ischemia and Bacterial Translocation in the Abdominal Compartment Syndrome. **J. Trauma**, Baltimore, v.43, p.852-855, 1997.
 24. DRUART, M. L.; VAN HEE, R.; ETIENNE, J.; CADIERE, G. B.; GIGOT, J. F.; LEGRAND, M.; LIMBOSCH, J. M.; NAVEZ, B.; TUGILIMANA, M.; VAN VYVE, E.; VEREECKEN, L.; WIBIN, E.; YVERGNEAUS, J. P. Laparoscopic repair of perforated duodenal ulcer. A prospective multicenter clinical trial. **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, n.10, p. 1017-1020, 1997.

25. DUGUE, L.; FRITSCH, S.; FELTEN, A ; GOSSOT, D.; COLOMER, S.; CELERIER, M.; LAGRANGE, REVILLON, Y. Effets del'insufflation intra-péritonéale sur la dissémination hématogène des infections abdominales. **Ann. Chir.**, Paris, v. 49, n.5, p. 423-426, 1995.
26. ELEFTHERIADIS, E.; KOTZAMPASSI, K.; PAPANOTAS, K.; HELIADIS, N.; SARRIS, K Gut Ischemia, oxidative stress and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. **World J. Surg.**, New York, v.20, p. 11-16, 1996.
27. EVASOVICH, M. R.; CLARK, T. C.; HORATTAS, M. C.; HOLDA, S.; TREEN, L. Does pneumoperitoneum during laparoscopy increase bacterial translocation? **Surg. Endosc.**, New York, v. 10, p.1176-1179, 1996.
28. EVRARD, S.; FALKENRODT, A ; PARK, A ; TASSETTI, V.; MUTTER, D.; MARESCAUX, J. Influence of CO₂ pneumoperitoneum on Systemic and Peritoneal Cell-mediated Immunity. **World J. Surg.**, New York, v. 21, p. 353-357, 1997.
29. EYPASCH, E.; SPANGENBERGER, W.; URE, B. Laparoskopische und konventionelle übernahmen perforierter peptischer ulzera-ein gegenüberstellung. **Chirurgie**, Berlin, v.65, p. 445-450, 1994.
30. FRANKLIN, M.E.; DORMAN, J.P.; JACOBS, M.; PLASENCIA, G. Is laparoscopic surgery applicable to complicated colonic diverticular disease? **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, n.10, p.1021-5, 1997.
31. FUJIMOTO, T.; SEGAWA, O; LANE, G. J.; ESAKI, S.; MIYANO, T. Laparoscopic surgery in newborn infants. **Surg. Endosc.** New York, v. 13, n. 8, p. 773-777, Aug. 1999.
32. GILL, C. O ; DELACY, K. M. Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on high pH beef packed under vacuum or carbon dioxide. **Int. J. Food Microbiol**, v. 13, p. 21-30, 1991.
33. GRISHMAN, M. B.; GRANGER, D. N. Free radicals reactive metabolites of oxygen as mediators of postischemic reperfusion injury. In: **MARTSON, A et. al. Splanchnic ischemia and multiple organ failure**. St Louis: Mosby, 1989. p. 135-144.
34. GUILGEN,G.A. **Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos** – modelo experimental em ratos. Curitiba, 1992. Dissertação (Mestrado em Cirurgia)- Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
35. GURTNER, G. C.; ROBERTSON, C. S.; CHUNG, S. C. S.; LING, T. K. W.; IP, S. M.; LI, A K. C. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteremia and endotoxemia in an animal model of peritonitis. **Br. J. Surg.**, Guildford, v. 82, p. 844-848, 1995.

36. GUTT, C. N.; HEINZ, P.; KAPS, W.; PAOLUCCI, V. The phagocytosis activity during conventional and laparoscopic operations in the rat. **Surg. Endosc.**, New York, v. 11, p. 899-901, 1997.
37. HAJAR, N. **Efeito do pneumoperitônio com dióxido de carbono na translocação bacteriana**: estudo experimental em ratos normais e com colite induzida. Curitiba, 1999. Dissertação (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
38. HAJAR, Nemer. **O uso do azul de Evans para avaliar a permeabilidade vascular na colite induzida com ácido acético a 10% em ratos wistar**. Curitiba, 1994. Dissertação (Mestrado em Cirurgia)- Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
39. HARRIS, R.I.; STONE, P. C. W.; STUART, J. An improved chromogenic substrate endotoxin assay for clinical use. **J. Clin. Pathol.**, Birmingham, v.36, p.1145-1149, 1983.
40. HEEMKEN, R.; GANDAWIDJAJA, L. HAU, T. Peritonitis: pathophysiology and local defense mechanisms. **Hepatogastroenterology**, Athens, v. 44, n.16, p. 927-936, 1997.
41. HEINZELMANN, M.; SIMMEN, H. P.; CUMMINS, A S.; LARGIADER, F. Is laparoscopic appendectomy the New Gold Standard? **Arch. Surg.**, Chicago, v. 130, p.782-785, July, 1995.
42. HELLBERG, A. ; RUDBERG, C.; KULLMAN, E.; ENOCHSSON, L.; FENYO, G.; GRAFFNER, H.; HALLERBACK, B.; JOHANSSON, B.; ANDERBERG, B.; WENNER, J.; RINGQVIST, I.; SORENSEN, S. Prospective randomized multicentre study of laparoscopic versus open appendectomy. **Brit. J. Surg.**, Guildfold, v. 86., n.1, p. 48-53, 1999.
43. HENRY, C.; SMADJA, C.; VONS,C.; BOBOCESCU,E.; MARIETTE, D.; TAHRAT, M.; FRANCO, D. Results of laparoscopic treatment of abdominal emergencies. **Ann Chir.**, Paris, v. 52, n.3, p. 223-228, 1998.
44. HUNT, J. L. Generalized peritonitis: to irrigate or not to irrigate the abdominal cavity. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 117, p. 209-212, Feb. 1982.
45. HUNTER,J.G. Laparoscopic pneumoperitoneum: The abdominal compartment syndrome revisited. **J. Am. Coll. Surg.**, New York,v.181, p.469-470, 1995.
46. IBRAHIM, I. M.; WOLODIGER, F.; SUSSMAN, B.; KAHN, M.; SILVESTRI, F.; SABAR, A. Laparoscopic management of acute small-bowel obstruction. **Surg. Endosc.**, New York,v. 10, n.10, p. 1012-1014, 1996.
47. IPEK, T.; PAKSOY, M.; COLAK, T.; POLAT, E.; UYGUN, N. Effect of carbon

- dioxide pneumoperitoneum on bacteremia and severity of peritonitis in na experimental model. **Surg. Endosc.**, New York, v.12, p. 432-435, 1998.
48. ISHIZAKI, Y.; BANDAI, Y.; SHIMOMURA, K.; ABE, H.; OHTOMO, Y.; IDEZUKI, Y. Safe intraabdominal pressure of carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic surgery. **Surgery**, St. Louis., v.114, n.3, p.549-554, 1993.
 49. IWANAKA, T.; ARKOVITZ, M. S.; ARYA, G.; ZIEGLER, M. M. Evaluation of operative stress and peritoneal macrophage function in minimally invasive operations. **J. Am. Coll. Surg.**, New York, v. 184, n.4, p. 357-363, 1997.
 50. JACOBI, C A.; ORDEMANN, J.; BOHM, B.; ZIEREN, H. U.; VOLK, H. D.; LORENZ, W.; HALLE, E.; MULLER, J. M. Does laparoscopy increase bacteremia and endotoxemia in a peritonitis model? **Surg. Endosc.**, New York, v.11, p. 235-238, 1997.
 51. JACOBI, C. A ; ORDEMANN, J.; ZIEREN, H. U.; VOLK, H. D.; BAUHOFER, A.; HALLE, E.; MULLER, J. M. Increased Systemic Inflammation After Laparotomy vs Laparoscopy in na Animal Model of Peritonitis. **Arch. Surg.**, Chicago, v.133, p.258-262, 1998.
 52. KATAYAMA, M.; XU, D.; SPECIAN, R. D.; DEITCH, A . Role of Bacterial Adherence and the Mucus Barrier on Bacterial Translocation. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.225, n.3, p.317-326, 1997.
 53. KOTZAMPASSI, K.; KAPANIDIS, N.; KAZAMIAS, P.; ELEFThERIADIS. Hemodynamic events in the peritoneal enviroment during pneumoperitoneum in dogs. **Surg. Endosc.**, New York, v. 7, p. 494, 1993.
 54. LENTSCHENER, C.; BENHAMOU, D.; M'JAHED, K.; MOUSTAFIS, M.; FISCHLER, M. Increased intraperitoneal pressure up to 15 mmHg does not reliably induce haemodynamic changes in pigs. **Br. J. Anaesth.**, London, v.78, p. 576-578, 1997.
 55. LINHARES Jr., L. D. **Estudo de disseminação hematogênica de bactérias em ratos com peritonite bacteriana submetidos a limpeza mecânica da cavidade peritoneal por laparotomia ou por videolaparoscopia**. Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
 56. MOURET, P. From the first laparoscopic cholecystectomy to the frontiers of laparoscopic surgery. **Digest. Surg.**, New York, v. 8, p. 124-125, 1991.
 57. NAVEZ, B.; TASSETTI, V.; SCOHY, J. J.; MUTTER, D.; GUIOT, P.; EVRARD, S.; MARESCAUX, J.; Laparoscopic management of acute peritonitis. **Br. J. Surg.** Guildfold, v. 85, p. 32-36, 1998.
 58. NEUBERGER, T. J.; ANDRUS, C. H.; WITTGEN, C. M.; WADE, T. P.; KAMINSKI,

- D. L. Prospective comparison of helium versus carbon dioxide pneumoperitoneum. **Gastrointest. Endosc.**, St. Louis, v.43, n.1, p. 38-41, 1996.
59. NICHOLS, R. L.; SMITH, J.W.; BALTHAZAR, E. R. Peritonitis and intra-abdominal abscess: An experimental model for the evaluation of human disease. **J. Surg. Res.**, New York, v. 25, p. 129-134, 1978.
 60. O'SULLIVAN, G. C.; MURPHY, D.; O'BRIEN, M.G.; IRELAND, A. Laparoscopic management of generalized peritonitis due to perforated colonic diverticular. **Am. J. Surg.**, Belle Mead, v. 171, n.4, p.432-4, 1996.
 61. ODEBERG, S.; LJUMGQVIST, O ; SOLLEVI, A . Pneumoperitoneum for laparoscopic cholecystectomy is not associated with compromised splanchnic circulation. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 164:11, p. 843-848, 1998
 62. PALOMBO, J. D.; LIU, K.; GREIF, W. M.; RAWN, J. D.; BOYCE, P. J.; FORSE, R. A. Effects of laparoscopic vs laparotomy treatment of E. coli peritonitis on hemodynamic responses in a porcine model. **Surg. Endosc.**, New York, v. 13, n. 10, p. 1001-1006, Oct. 1999.
 63. RASMUSSEN, I. B.; BERGGREN, U.; ARVIDSSON, D.; JUNGDAHL, M.; HAGLUND, U. Effects of pneumoperitoneum on Splanchnic hemodynamics; an experimental study in pigs. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 161, n.11, p. 819-826, 1995.
 64. REYNOLDS, J. V.; Gut barrier function in the surgical patient. **Br. J. Surg.**, London, v. 83, p. 1668-1669, 1996.
 65. ROCHA, J. J. R. Infecção peritoneal. Modelo experimental em cobaias. **Acta Cir. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 12-20, 1986.
 66. ROSATO, E. F.; ORAM-SMITH, J. C.; MULLIS, W.; ROSATO, F. E. Peritoneal lavage treatment in experimental peritonitis. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.175, p. 384-387, 1972.
 67. ROSATO, E. F.; SMITH, J. C.; MULLIS, W. F.; ROSATO, F. E. Peritoneal lavage treatment in experimental peritonitis. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 181, p. 705- 715, 1975.
 68. ROSENTHAL, Raul J.; FRIEDMAN, Richard L.;PHILLIPS, Edward H. **The Pathophysiology of Pneumoperitoneum. New York: Springer, 1998. p.1-187.**
 69. SARE, M.; YESILADA, O; GÜREL, M.; BALKAYA, M.; YOLOGLU, S.; FISKIN, K. Effects of CO₂ insufflation on Bacterial Growth in Rats with Escherichia coli- Induced Experimental Peritonitis. **Surg. Laparosc. Endosc.**, New York, v. 7, n.1, p.38-41, 1997.
 70. SCHILLING, M. K.; REDAELLI, C.; KRAHENBUHL, L.; SIGNER, C.; BUCHLER, M. W. Splanchnic microcirculatory changes during CO₂ laparoscopy. **J. Am. Coll.**

- Surg.**, New York, v. 184, p. 378-382, 1997.
71. SCHOENBERG, M. H.; BEGER, H. G. Reperfusion injury after intestinal ischemia. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v.21, n.9, p. 1376-1386, 1993.
 72. SHARMA, K. C.; BRANDSTETTER, R. D.; BRENSILVER, J. M.; JUNG, L. D. Cardiopulmonary physiology and pathophysiology as a consequence of laparoscopic surgery. **Chest**, New York, v.110, p. 810-815, 1996.
 73. SISEL, R. J.; DONOVAN, A J.; VELLIN, A E.; Experimental fecal peritonitis. Influence of barium sulfate or water soluble radiographic contrast material on survival. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 104, p. 675-682, 1957.
 74. SLEEMAN, H. K.; DIGGS, J. W.; HAYES, D. K.; HAMIT, H. F. Value of Antibiotics, corticosteroids, and peritoneal lavage in the treatment of experimental peritonitis. **Surgery**, St Louis, v. 66, p. 1060, 1969.
 75. SMITH, E. B.; Adjuvant therapy of generalized peritonitis with intraperitoneally administered cephalotin. **Surg Gynecol. Obstet**, Chicago, v. 136, p. 441-443, 1973.
 76. SMITH, R. S.; FRY, W. R.; TSOI, E. K. M. et al. Gasless laparoscopy and conventional instruments. **Arch. Surg.**; Chicago, v. 128, p. 1102-1107, Oct. 1993.
 77. STEWART, D. J.; MATHESON, N. A . Peritoneal lavage in faecal peritonitis in the rat. **Br. J. Surg.** Guildford, v.65, p. 57-59, 1978.
 78. TOPLEY, N.; MACKENZIE, R. K.; WILLIAMS, J. D. Macrophages and mesothelial cells in bacterial peritonitis. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 195, n.4-5, p. 563-573, 1996.
 79. TROKEL, M. J.; BESSLER, M.; TREAT, M. R.; WHELAN, R.; NOWYGRD, R. Preservation of immune response after laparoscopy. **Surg. Endosc.**, New York, v. 8, n.12, p. 1385-1387, 1994.
 80. TSILIBARY, E. C.; WISSIG, S. L. Lymphatic absorption from the peritoneal cavity: regulation of patency of mesothelial stomata. **Microvasc. Res.**, New York, v. 25, p. 22-39, 1983.
 81. TUG, T.; OZBAS, S.; TEKELI, A et al. Does pneumoperitoneum cause bacterial translocation? **J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech.**, New York, v.8, n.6, p. 401-407, Dec. 1998.
 82. WALKER, A P.; CONDON, R. E. Peritonitis and intra-abdominal abscesses. In: **Principles of Surgery**. 5.ed.,. New York: Mc Graw -Hill, 1989. P. 1459-1489.
 83. WEINSTEIN, W. M.; ONDERDONK, A B.; BARTLETT, J. G.; GORBACH, S. L.; Experimental intra-abdominal abscess in rats: development of na experimental

- model. **Infec. Immun.**, Washington, v. 10, p. 1250-1255, 1974.
84. WINDBERGER, U. B.; AUER, R.; KEPLINGER, F.; LANGLE, F.; HEINZE, G.; SCHINDL, M.; LOSERT, U. M.; The role of intra-abdominal pressure on splanchnic and pulmonary hemodynamic and metabolic changes during carbon dioxide pneumoperitoneum. **Gastrointest. Endosc.**, St. Louis, v.49, p. 84-91, 1999.
 85. WINDSOR, M. A ; BONHAM, M. J.; RUMBALL, M.; Splanchnic mucosal ischemia: an unrecognized consequence of routine pneumoperitoneum. **Surg. Laparosc. Endosc.**, New York, v.7, p.480-482, 1997.
 86. ZELLWEGER, R.; AYALA, A ; ZHU, X. L.; MORRISON, M. H.; CHAUDRY, I. H. Effect of surgical trauma on splenocyte and peritoneal macrophage immune function. **J. Trauma**, Baltimore, v. 39, p. 645-650, 1995.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 -	PREPARAÇÃO DO INÓCULO FECAL.....	47
ANEXO 2 -	CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA SUSPENSÃO FECAL.....	48
ANEXO 3 -	INOCULAÇÃO DOS ANIMAIS.....	49
ANEXO 4 -	INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO E IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL.....	50
ANEXO 5 -	LAPAROTOMIA E IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL.....	51
ANEXO 6 -	COLETA DE AMOSTRAS.....	52
ANEXO 7 -	CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBICAS.....	53
ANEXO 8 -	CÁLCULOS ESTATÍSTICOS.....	54
ANEXO 9 -	DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE SANGUE.....	55
ANEXO 10 -	DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL.....	56

ANEXO 1 - PREPARAÇÃO DO INÓCULO FECAL

- Agitador magnético Phoenix[®].
- Barra magnética esterilizada.
- Copo de Becker de 500ml esterilizado.
- Proveta de 1.000ml esterilizada.
- Gaze esterilizada.
- Funil de vidro esterilizado.
- Espátula de metal esterilizada.
- Frascos de vidro esterilizados, com tampas de borracha.
- Solução salina isotônica (NaCl a 0,9%) esterilizada (SSI).
- Sacos plásticos autoclaváveis Laborclin[®].
- Balança Analítica Helmac[®].
- Fezes humanas recém emitidas, de doador sadio, sem sintomas gastrointestinais e sem uso de antimicrobianos nos últimos 30 dias.

ANEXO 2 - CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA SUSPENSÃO FECAL

- Placas de Petri esterilizadas.
- Pipetas automáticas Gilson[®] de 1.000µl.
- Ponteiras esterilizadas.
- Tubos de ensaio contendo 15ml de Agar Infusão de Cérebro e Coração (BHI) Biobrás[®].
- Tubos de ensaio contendo 4,5ml de solução salina isotônica esterilizados.
- Bico de Bunzen.
- Jarra de anaerobiose e gerador de CO₂ Merck[®].
- Sacos plásticos autoclaváveis Laborclin[®].
- Banho-Maria Phoenix[®].
- Estufa a 37°C Fanen[®].
- Amostra da suspensão fecal.

ANEXO 3 - INOCULAÇÃO DOS ANIMAIS

- Cuba plástica com tampa.
- Éter Sulfúrico Reagen[®].
- Ratos.
- Suspensão fecal controlada.
- Seringa de 1ml e agulhas 13x5,5mm Beckton Dickinson[®].
- Álcool 90° GL.
- Algodão.

ANEXO 4 - INDUÇÃO DE PNEUMOPERITÔNIO E IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL

- Insuflador eletrônico de dióxido de carbono Karl Storz® modelo 264300-20.
- Acessório distribuidor de CO₂, constituído por tubo estéril de silicone unido a tubo de vidro especial para suportar altas pressões, com 1 entrada e 10 saídas de gás, onde pode-se conectar 10 animais simultaneamente e com o mesmo valor pressórico conforme descrito por HAJAR³⁷.
- Agulhas 40x12mm.
- polivinilpirrolidona-Povidine.
- Solução esterilizada de Hidrato de Cloral a 10%.
- Seringas de 3ml e agulhas 13x5,5mm.

ANEXO 5 - LAPAROTOMIA E IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL

- Solução esterilizada de Hidrato de Cloral a 10%.
- Seringas de 3ml e agulhas 13x5,5mm.
- Tricótomo e giletes comerciais.
- polivinilpirrolidona-Povidine.
- Pranchas cirúrgicas.
- Esparadrapo Johnson&Johnson®.
- Fio de sutura- Poligalactina- Vicryl 3.0®.
- Instrumental cirúrgico contendo:
 - lâmina de bisturi número 15.
 - cabo de bisturi.
 - tesoura de Metzemaum.
 - tesoura reta.
 - porta-agulhas.
 - 2 pinças hemostáticas- Kelly pequenas.

ANEXO 6 - COLETA DE AMOSTRAS

6.1 Coletas de Sangue

- Seringas de 3ml com agulhas 25x7mm heparinizadas.
- Cuba plástica com tampa.
- Éter Sulfúrico Reagen[®].
- Álcool 90° GL.
- Algodão.

6.2 Coletas de líquido peritoneal

- Seringas de 10ml com agulhas 25x7mm heparinizadas.
- Cuba plástica com tampa.
- Éter Sulfúrico Reagen[®].
- Álcool 90° GL.
- Algodão.
- Solução salina isotônica esterilizada.

ANEXO 7 - CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBICAS

- Placas de Petri esterilizadas.
- Pipetas automáticas Gilson[®] de 1.000µl.
- Ponteiras esterilizadas.
- Tubos de ensaio contendo 15ml de Agar Infusão de Cérebro e Coração (BHI) Biobrás[®].
- Tubos de ensaio contendo 4,5ml de solução salina isotônica esterilizados.
- Bico de Bunzen.
- Sacos plásticos autoclaváveis Laborclin[®].
- Banho-Maria Phoenix[®].
- Estufa a 37°C Fanen[®].
- Amostra a ser aferida.

ANEXO 8 - CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

8.1 Intervalo de Confiança (Fórmula 01)

$$IC (95\%) = \frac{MX \pm (1,96 \times DP)}{\sqrt{N}}$$

ANEXO 9 - DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE SANGUE

RATO	PERITONITE		PERITONITE + PNEUMOPERITÔNIO		PNEUMOPERITÔNIO		PERITONITE + LAPAROTOMIA		LAPAROTOMIA		NORMAIS	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
1	11	16	8	3	0	0	8	8	0	0	0	0
2	9	9	11	0	0	0	13	3	0	0	0	0
3	6	21	6	11	0	0	5	0	0	0	0	0
4	8	17	12	8	0	0	26	0	0	0	0	0
5	15	11	9	5	0	0	10	12	0	0	0	0
6	9	9	8	13	0	0	9	3	0	0	0	0
7	12	12	14	15	0	0	16	5	0	0	0	0
8	6	26	11	9	0	0	11	9	0	0	0	0
9	9	13	7	4	0	0	15	0	0	0	0	0
10	12	9	14	0	0	0	21	10	0	0	0	0
DP	2,83	5,71	2,82	5,24	0	0	6,34	4,49	0	0	0	0
M	9,7	14,3	10	6,8	0	0	13,4	5	0	0	0	0
IC	1,75	3,54	1,75	3,25	0	0	3,93	2,78	0	0	0	0
P	0,098371		0,131869		0		0,010222		0		0	

S: sangue T1 = resultados x 10², T2 = resultados x 10²

ANEXO 10 - DEMONSTRATIVO GERAL DOS RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO PERITONEAL

RATO	PERITONITE		PERITONITE + PNEUMOPERITÔNIO		PNEUMOPERITÔNIO		PERITONITE + LAPAROTOMIA		LAPAROTOMIA		NORMAIS	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
1	33	52	51	21	0	0	36	16	0	0	0	0
2	69	63	55	17	0	0	66	8	0	2	0	1
3	76	45	63	11	0	0	51	11	0	0	0	0
4	43	39	54	9	0	0	65	25	0	0	0	0
5	37	54	37	28	0	0	43	34	0	0	0	0
6	58	52	68	31	0	0	39	28	0	0	0	0
7	21	55	48	27	0	0	74	33	0	3	0	0
8	50	71	38	36	0	0	46	17	0	0	0	0
9	36	63	41	15	0	0	63	9	0	0	0	0
10	81	49	49	8	0	0	28	15	0	0	0	0
DP	18,98	8,88	11,56	9,83	0	0	14,42	9,70	0	1,08	0	0,31
M	50,4	54,3	52,3	20,3	0	0	51,1	19,6	0	0,5	0	0,1
IC	11,76	5,50	7,16	6,09	0	0	8,94	6,01	0	0	0	0
p	0,304894336		0,000235		0		0,006440955		0		0,343436	

LP: líquido peritoneal T1 = resultados x 10⁵, T2 = resultados x 10⁵