



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

CARLOS ALBERTO FIGUEIREDO FILHO

**RESPOSTA AO USO DE MEROPENEM INTRAVENOSO APÓS PERITONITE
FECAL AUTÓGENA EM RATOS IDOSOS**

Recife - PE
2017

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

CARLOS ALBERTO FIGUEIREDO FILHO

**RESPOSTA AO USO DE MEROPENEM INTRAVENOSO APÓS PERITONITE
FECAL AUTÓGENA EM RATOS IDOSOS**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca avaliadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical

Orientadora

Profa.: Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Professora Titular do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do CCS/UFPE

Co-orientador

Prof. Dr. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Titular do Departamento de Cirurgia, CCS-UFPE

Recife - PE
2017

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

- F475r Figueiredo Filho, Carlos Alberto.
Resposta ao uso de meropenem intravenoso após peritonite fecal
autógena em ratos idosos / Carlos Alberto Figueiredo Filho. – 2017.
80 f.: il. tab.; quad.; 30 cm.
- Orientadora: Célia Maria Machado Barbosa de Castro.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2017.
Inclui referências e apêndices.
1. Peritonite. 2. Seps. 3. Envelhecimento. 4. Carbapenêmicos. 5. Ratos.
I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de (Orientadora). II. Título.

618.9883

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2017-335)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

CARLOS ALBERTO FIGUEIREDO FILHO

**RESPOSTA AO USO DE MEROPENEM INTRAVENOSO APÓS PERITONITE
FECAL AUTÓGENA EM RATOS IDOSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Aprovado em: 24/08/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Amélia Vieira Maciel (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^ª. Dr^ª. Maria Cecília Santos Cavalcanti Melo (Examinadora Externa)
Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento (CESED/UNIFACISA)

Prof. Dr. Adriano Azevedo de Mello (Examinadora Externa)
Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento (CESED/UNIFACISA)

Recife - PE
2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA

Profa Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Nicodemos Teles Pontes Filho

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
TROPICAL

Valdênia Maria Oliveira de Souza

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA TROPICAL

Maria Amélia Vieira Maciel

CORPO DOCENTE PERMANENTE

Ana Catarina de Souza Lopes
Ana Lucia Coutinho Domingues
Célia Maria Machado Barbosa de Castro
Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto
Fábio André dos Santos Brayner
Heloísa Ramos Lacerda de Melo
Maria Amélia Vieira Maciel
Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho
Marli Tenório Cordeiro
Rejane Pereira Neves
Ricardo Arraes de Alencar Ximenes
Valdênia Maria Oliveira de Souza
Vera Magalhães da Silveira
Vlândia Maria Assis Costa

CORPO DOCENTE COLABORADOR

Líbia Cristina Rocha Vilela Moura
Virgínia Maria Barros de Lorena

Dedico

*À minha esposa, **Deborah**, presente de Deus em minha vida, sempre ao meu lado, com paciência e amor. Esposa e mãe exemplar.*

*Aos meus filhos, **Maria Vitoria, Sofia e Mateus**, agradeço por ceder-me o tempo que lhes era devido e pelos abraços revigorantes.*

*Aos meus filhos, **Davi e Ana**, que Deus permitiu que eu conhecesse, mas aprouve-lhe levá-los para morar ao Seu lado. Papai ama vocês.*

*Ao meu pai, **Professor e Pastor Carlos Alberto**, pelos ensinamentos na vida medica e por refletir o caráter, a imagem e semelhança de Deus.*

*A minha mãe, **Symone**, pelas orações, pelo cuidado permanente. Sempre disponível.*

*Aos meus irmãos, **Samuel, Eduardo e Sergio**, amigos incondicionais.*

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, meu Pastor, que nada me deixa faltar, mesmo sem merecer tem me abençoado de forma generosa e misericordiosa. Minha Luz, meu Guia, meu Porto Seguro.

A professora, **Célia Maria Machado Barbosa de Castro**, que prontamente se dispôs a orientar-me nesse projeto de dissertação. Muito obrigado pela paciência.

Ao professor, **Carlos Teixeira Brandt**, que acreditou no MINTER, e deu-me a oportunidade de crescer na arte da ciência das evidências.

Aos meus colegas de mestrado, **Gustavo Ithamar, Rosivania, Valeria Marquis e Maira**, juntos somos mais fortes.

Ao Colega, Professor **Guilherme Veras**, que pacientemente ensinou-me os caminhos da estatística.

À médica veterinária, **Thárcia Kiara Bezerra Oliveira**, pelo apoio irrestrito nesse projeto experimental, sempre prezando pela ética no uso do biotério.

RESUMO

FIGUEIREDO FILHO, Carlos Alberto. **Indução de peritonite fecal autógena em ratos idosos. Resposta ao uso de meropenem intravenoso.** Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

Objetivo: Avaliar os resultados do uso de meropenem intravenoso na peritonite autógena em ratos idosos. **Métodos:** Inicialmente, um piloto com 10 ratos Wistar com 18 meses de idade foi submetido à indução de peritonite autógena com 10% de suspensão de fezes na dose de 4 ml / kg de rato para produzir um modelo experimental de ratos idosos sépticos. Trinta ratos Wistar de 18 meses foram estratificados em três grupos e receberam indução de peritonite fecal: grupo Controle sem tratamento, grupo Estudo 1 e grupo Estudo 2, tratados com meropenem intravenoso com uma dose única de 40 mg/kg de rato. O grupo Estudo 1 recebeu tratamento após seis horas de indução de peritonite e grupo Estudo 2 após doze horas. Os animais que sobreviveram foram seguidos por 15 dias, seguido de eutanazia. **Resultados:** O conjunto de morbidade e mortalidade avaliadas por escore previamente validado foi maior para os grupos Controle e Estudo 2. O grupo Estudo 1 apresentou 80% de hemoculturas negativas, apesar dos abscessos abdominais em quatro animais, enquanto o grupo Estudo 2 apresentou hemoculturas negativas em 60% dos animais, além de apresentar abscessos múltiplos associados a pus livre na cavidade abdominal e/ou torácica. Nenhum dos animais do grupo Estudo 1 (tratado precocemente) morreu, enquanto a mortalidade nos grupos Controle e Estudo 2 foram respectivamente de 30% e 20%. **Conclusões:** O uso de meropenem intravenoso após indução de peritonite fecal autógena em ratos idosos obteve melhores desfechos, resultando em um conjunto menor de morbidade e mortalidade, mesmo considerando os abscessos residuais na cavidade abdominal.

Palavras-Chave: Peritonite. Sepses. Envelhecimento. Carbapenêmicos. Ratos.

ABSTRACT

FIGUEIREDO FILHO, Carlos Alberto. Autogenic fecal peritonite in old rats. Response to the use of intravenous meropenem. Dissertation (Master in Tropical Medicine) - Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, 2017.

Objective: To evaluate the results of the use of intravenous meropenem in autogenous peritonitis in elderly rats. **Methods:** Initially, a pilot with 10 18-month-old Wistar rats submitted to induction of autogenous peritonitis with 10% stool suspension at the dose of 4 ml / kg rat to produce an experimental model of elderly septic mice. Thirty 18-month Wistar rats were stratified into three groups and received induction of fecal peritonitis: Control group without treatment, Study group 1 and Study group 2, treated with intravenous meropenem with a single dose of 40 mg / kg rat. The Study Group 1 treatment after six hours of peritonitis induction and Study group 2 after twelve hours. The surviving animals were followed for 15 days, followed by euthanasia. **Results:** The morbidity and mortality group evaluated by a previously validated score was higher for the control and study groups. Study Group 1 presented 80% of negative blood cultures, despite the abdominal abscesses in four animals, while Study 2 presented negative blood cultures in 60% of the animals, besides presenting abscesses in conditions of release in the abdominal and / or thoracic cavity. None of the animals in Study 1 (treated early) died, while mortality in the Control and Study 2 groups were 30% and 20%, respectively. **Conclusions:** The use of intravenous meropenem after induction of autogenic fecal peritonitis in elderly rats obtained better outcomes, resulting in a lower set of morbidity and mortality, even considering residual abscesses in the abdominal cavity.

Keywords: Peritonitis. Sepsis. Aging. Carbapenems. Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Diluição das fezes.....	30
Figura 2	Filtragem da solução fecal.....	31
Figura 3	Indução da peritonite.....	31
Figura 4	Fluxograma de estratégias do grupo piloto.....	32
Figura 5	Fluxograma de estratégias de indução de peritonite e tratamento entre os grupos.....	32
Figura 6	Fluxograma de eutanásia e inventario de cavidades.....	33
Figura 7	Evolução do peso dos animais durante o seguimento.....	46
Figura 8	Comparação das medias de peso do grupo Controle no inicio e no final do estudo.....	47
Figura 9	Comparação das medias de peso do grupo Estudo 1 no inicio e no final do estudo.....	47
Figura 10	Comparação das medias de peso do grupo Estudo 2 no inicio e no final do estudo.....	48
Figura 11	Peritonite difusa com pus livre em abdome associada a infecção em cavidade torácica(Estudo2).....	49
Figura 12	Múltiplos abscesso em mesentério e alças intestinais (Controle).....	49
Figura 13	Abscesso bloqueado intra-abdominal (Estudo 2).....	50
Figura 14	Abscesso hepático (Estudo 1).....	50
Figura 15	Abscesso roto abdominal (Controle).....	51
Figura 16	Abscesso renal (Estudo 2).....	51
Figura 17	Múltiplos abscessos pulmonares e cardite purulenta (Estudo 2).....	52
Figura 18	Cavidades abdominal e torácica sem alterações (Estudo 1).....	52
Figura 19	Diferença entre as médias dos escores das diferentes estratégias.....	54
Figura 20	Comparação dos resultados da hemocultura nos diferentes grupo.....	55

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1	Comparação entre a media de peso inicial e no final do seguimento em cada grupo.....	47
Tabela 2	Resultado das médias dos escores em cada grupo.....	53
Tabela 3	Comparação entre o escore de morbidade/mortalidade em cada grupo.....	53
Quadro 1	Escore de morbidade/mortalidade.....	35
Quadro 2	Resultados dos escores dos diferentes grupos.....	53
Quadro 3	Resultados das hemoculturas.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B. fragilis	<i>Bacteróides fragilis</i>
CESED	Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento
CEUA	Comitê de Ética em Uso de Animais
CLP	ligadura e punção cecal
Cobea	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
FCM-CG	Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande
IIA	Infecção intra-abdominal
IL-1	interleucina 1
IL-11	interleucina 11
IL-5	interleucina 5
IL-6	interleucina 6
LBC	ligadura bilateral de carótida
LPS	lipopolissacarídeos
NK	<i>natural killer</i>
SRIS	síndrome da resposta inflamatória sistêmica
UFC/ml	unidades formadoras de colônias por ml
UTI	unidades de terapia intensiva

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	Envelhecimento e infecção	18
2.2	Septicemia e peritonite	19
2.3	Antibióticoterapia na septicemia e peritonite	22
2.4	Modelos experimentais de peritonite	24
2.5	OBJETIVOS	27
2.6	Objetivo geral	27
2.7	Objetivos específicos:	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	Desenho do estudo	29
3.2	Local de estudo	29
3.3	População	29
3.4	CrITÉRIOS de inclusão	29
3.5	CrITÉRIOS de exclusão	29
3.6	Procedimentos Técnicos	30
3.6.1	Condições de acondicionamento dos animais	30
3.6.2	Condições de indução da peritonite	30
3.6.3	Intervenção com meropenem	32
3.6.4	Monitoramento	33
3.6.5	Coleta dos dados	33
3.6.5.1	A Eutanásia	34
3.6.5.2	Acesso à cavidade abdominal	34
3.6.5.3	Coleta de sangue para hemocultura	35
3.6.5.4	Acesso à cavidade torácica	35
4	VARIÁVEIS DO ESTUDO	38
4.1	Definição de termos	38
4.1.1	Abscesso em cavidade abdominal	38
4.1.2	Abscesso em cavidade torácica	38
4.1.3	Hemocultura	38
4.2	Operacionalização e categorização das variáveis	38

4.2.1	Variáveis de controle	38
4.2.2	Variáveis independentes	39
4.2.3	Variáveis dependentes	39
5	PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS	42
6	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	44
7	RESULTADOS	46
8	DISCUSSÃO	57
9	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62
	APENDICE A - ARTIGO	69
	ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA EM PESQUISA	80

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A sepse é definida como uma disfunção de órgãos que ameaça a vida, causada por uma resposta desregulada do hospedeiro frente à infecção. (SINGER et al., 2016)

O desfecho desfavorável frente à sepse pode ser atribuído à condição inerente ao paciente, como por exemplo, a idade, comorbidades ou a gravidade da apresentação da doença. (SARTELLI et al., 2017) Embora a idade sozinha não seja decisiva para o desfecho, deve-se reconhecer que pacientes idosos correm alto risco de desfechos adversos, incluindo a morte. (DESSERUD et al., 2016)

Os pacientes acima dos 65 anos de idade representam a maioria (60 a 85%) de todos os episódios de sepse; de forma que com o crescente envelhecimento da população, a incidência de sepse tende a continuar aumentando. (MARTIN et al., 2003)

As infecções intraperitoneais que afetam pessoas com idade de ≥ 65 anos são de difícil diagnóstico etiológico, apresentação não habitual, gravidade aumentada e prognóstico mais reservado que em indivíduos jovens, levando a quadros sépticos sistêmicos. Entretanto, a maior parte da pesquisa experimental com ratos *Wistar* para avaliar sepse de foco abdominal e a resposta terapêutica antimicrobiana é conduzida sem utilizar animais idosos. (YALE et al., 2002; SANTOS, 2011)

Dejager et al. (2011), ao induzirem sepse de foco intra-abdominal por ligadura e perfuração do ceco em ratos *Wistar* jovens e adultos, a fim de investigar os mecanismos de coagulação dependente da idade; observaram taxa de mortalidade de 92% para os animais adultos e apenas de 28% entre os animais jovens. Staar et al. (2012), compararam animais em diferentes idades expostos a peritonite e observaram que os animais em idade adulta apresentaram maior morbidade à custa de alterações nas citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6) e anti-inflamatórias (IL-5, IL-11) quando comparados com animais jovens. Porém nenhum desses estudos utilizou em sua metodologia animais idosos.

Gadelha et al. (2014) induziram peritonite autógena em ratos *Wistar* por inoculação de solução fecal intraperitoneal, com ligadura bilateral de carótida (LBC), no intuito de mimetizar senescência de sistema nervoso central. A morbidade e mortalidade de animais jovens foram menores do que em animais adultos com e sem LBC. Não houve diferença na morbidade ou mortalidade entre os ratos maduros com e sem LBC. A resposta imune foi mais eficiente em animais jovens do que em ambos os grupos de animais adultos, comprovando que a idade é um fator preditor independente de prognóstico frente ao desafio de sepse abdominal. Porém esse estudo não avaliou animais idosos.

O tratamento precoce da fonte da infecção abdominal reduz a taxa de mortalidade. É necessária uma terapêutica eficaz com agentes antimicrobianos empíricos para reduzir a resistência e melhorar o desfecho clínico. O meropenem é uma das melhores e mais seguras opções para o tratamento antimicrobiano da sepse de foco abdominal. (COCCOLINI et al., 2017)

Desenvolvendo uma linha de pesquisa em infecção experimental e envelhecimento, avaliou-se o resultado do tratamento com meropenem para peritonite autógena induzida em ratos *Wistar* jovens, adultos e idosos. Os resultados deste estudo, diferentemente dos estudos citados anteriormente, mostraram que nos grupos de animais jovens e adultos a mortalidade e morbidade foram semelhantes após intervenção com dose única de meropenem no sétimo dia após a indução da peritonite. (MASCENA et al., 2014) Porém neste estudo a dosagem de 6ml/kg de solução fecal utilizada para indução de peritonite fecal no grupo de animais idosos e, o tempo de sete dias entre a indução da peritonite e a primeira intervenção com o meropenem, levaram a mortalidade de quase a totalidade dos animais idosos, antes mesmo da intervenção com o meropenem. Portanto, nenhum estudo experimental até o momento, conseguiu avaliar a resposta do meropenem intravenoso na peritonite fecal autógena em ratos *Wistar* idosos.

O presente estudo pretende produzir um modelo experimental de rato *wistar* idoso com peritonite autógena e verificar se o tempo decorrido entre a indução de peritonite fecal autógena e a administração intravenosa de meropenem, tem associação com o aumento da morbidade (alteração de peso, formação de abscessos intra-abdominais e em cavidade torácica) e/ou mortalidade desses animais. Portanto, com esse estudo, esperamos contribuir para melhor compreensão do comportamento do meropenem frente a sepse de foco abdominal em idosos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Envelhecimento e infecção

Estima-se que no ano 2050 os indivíduos com mais de 60 anos de idade representarão 22% da população mundial. (PERA et al., 2015) Essa tendência é atribuída aos avanços nas ciências médicas e nutrição, que resultaram em um aumento, em mais de 40 anos, na expectativa de vida dos seres humanos no último século. Portanto, um sistema imunológico que foi concebido para funcionar durante cerca de 40 anos tem agora que continuar atuando por um período adicional de quatro décadas. (DE GAUDIO et al., 2009)

O envelhecimento da população está associado ao aumento da frequência de doenças relacionadas com a idade, incluindo maior susceptibilidade a infecções. (PERA et al., 2015).

O avanço da idade tem sido apontado como um dos principais determinantes da evolução do quadro séptico. (GIUNTA et al., 2009) A incidência e a gravidade da septicemia aumentam de forma significativa com a idade.

Essa anormalidade no sistema imune provocada pelo envelhecimento é denominada de imunossenescência, sendo o principal responsável pela má evolução clínica nessa faixa etária, representada por maior incidência de infecções, neoplasias e doenças autoimunes. (AW et al., 2007; FRANCESCHI et al., 2000)

As mudanças que ocorrem em cada sistema de órgãos em pacientes idosos esgotam as reservas fisiológicas e, conseqüentemente, a resposta à infecção intra-abdominal, enquanto inibem a capacidade de localizar, combater e erradicar infecções. (WROBLEWSKI et al., 1991)

Pacientes na oitava década de vida, quando hospitalizados para tratamento em unidades de terapia intensiva (UTI) tem média de permanência de internação 20 vezes maior quando comparado com pacientes jovens. (GERARD et al., 2007).

Pawelec et al.(1999) definiram imunossenescência como o estado de função imune desregulada, que contribui para o aumento da susceptibilidade à infecção e doenças autoimunes, incluindo seres humanos idosos. As características clínicas da imunossenescência indicam claramente disfunção na imunidade inata nos últimos anos.

Com o envelhecimento, o sistema cardiovascular tem resposta compensatória limitada ou ausente frente à inflamação após um insulto infeccioso, e a resposta febril e recrutamento de células sanguíneas brancas podem ser deficitários. Portanto, os adultos mais velhos podem

não manifestar a síndrome típica da resposta inflamatória sistêmica, atrasando o diagnóstico e início do tratamento antimicrobiano. (UMBERGER et al., 2015).

O aumento dos níveis de proteína C ativada após indução da peritonite autógena não foi observado em animais envelhecidos; sugerindo que o aumento da coagulação em ratos idosos durante a sepse é devido à disfunção do mecanismo de ativação da proteína C. (STARR et al., 2014).

Um número crescente de estudos também tem sugerido que há um declínio na capacidade fagocitária e redução na produção de ânion superóxido em macrófagos e neutrófilos nos idosos. (LORD et al., 2001). Outra alteração fagocitária nos idosos inclui a diminuição de receptores nos macrófagos, além da alteração na ativação dos neutrófilos dependentes da formil-metionil-leucil-fenilalanina, associada à mobilização do cálcio intracelular.

O envelhecimento está associado com o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e fibroblastos. Níveis elevados desses mediadores podem ser responsáveis pela maioria das doenças associadas à idade. (DE MARTINES et al., 2005). Starr et al. (2014) observaram uma maior susceptibilidade associada à idade para septicemia através da dosagem de um importante mediador das inflamações sistêmicas, a interleucina-6, que se mostrou alterado no tecido adiposo dos idosos, importante fonte de produção desta citosina.

As células Natural killer (NK), são células citotóxicas que desempenham um papel importante na resposta imune inata, destruindo células tumorais ou infectadas, sem que estas expressem algum antígeno ativador da resposta imune específica. Dado o papel essencial que a NK desempenha na imunidade, não é razoável supor que as manifestações clínicas atribuídas ao imunossenescência também poderia ser o resultado de alterações dependentes da idade, em número e função das células NK. Há consenso de que um aumento progressivo do percentual de células NK com um fenótipo maduro ocorre em doadores idosos associados com uma diminuição da sua capacidade citotóxica. (SOLANA et al., 2000)

2.2 Septicemia e peritonite

Apesar dos avanços importantes no suporte de terapia intensiva, a Síndromes de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), com destaque a sepse, é uma das principais causas de mortalidade em UTI de todo o mundo. (ROBBY et al., 2014). A resposta do organismo frente

à sepse resulta em processo inflamatório intravascular, desencadeando danos teciduais, falência de órgãos e morte. (MONTANARO et al., 2016).

A sepse é determinante na gravidade do quadro clínico em mais de 25% dos pacientes em UTI, chegando a cerca de 70% de taxa de mortalidade, na sua fase aguda. Aqueles pacientes que tem êxito frente ao choque séptico, por vezes, ficam com seqüelas que afetam a qualidade de vida. (ANGUS et al., 2001).

A sepse é o resultado de uma infecção associada a uma resposta inflamatória sistêmica à produção e liberação de uma grande variedade de mediadores inflamatórios, como causa importante da falha de órgão e mortalidade. Choque distributivo, alteração do fluxo microvascular, declínio na atividade miocárdica, e lesão no endotélio dos vasos de forma difusa são algumas das alterações fisiopatológicas que servem de pilar central de sustentação do quadro séptico. (MARIK et al., 2014).

Starr et al. (2014) ao induzirem sepse intra-abdominal por ligadura e perfuração cecal utilizando ratos jovens e de faixa etária avançada, a fim de investigar os mecanismos de coagulação dependente da idade; observaram taxas de mortalidade de 92% para os animais idosos e apenas de 28% dos animais jovens.

A peritonite, frequentemente, causa morbidade e mortalidade em seres humanos. Ensaios clínicos recentes demonstraram mortalidade global de 2% a 3% dos pacientes com complicações de infecções intra-abdominais (IIA). (MAZUSKI et al., 2009; ALTEMEIER, 1979).

Em um estudo sobre pacientes idosos por Cooper et al. (1994), apendicite aguda e diverticulite causaram sepse intra-abdominal em 28% dos pacientes, e colecistite e colangite em 12% dos casos; abscessos intra-abdominais estavam presentes em 9% dos indivíduos. Volvo intestinal, isquemia mesentérica e perfuração do cólon por neoplasia são comuns nos pacientes idosos como causa de IIA, porém raros em pacientes jovens.

Uma classificação aceita divide as IIA em: sem complicações, quando a infecção atinge apenas um órgão intra-abdominal sem se estender ao peritônio; e complicadas, quando o processo infeccioso passa além do órgão para o peritônio, causando peritonite localizada ou difusa, podendo incluir também abscessos intraperitoneais, retro peritoneais e parenquimatosos. (MENICHETTI et al., 2009).

A peritonite pode ser classificada como primária, secundária e terciária. A peritonite primária é uma infecção bacteriana difusa (geralmente causada por um único organismo) sem perda de integridade do trato gastrointestinal, geralmente tratada sem intervenção cirúrgica. A peritonite secundária é a forma mais comum de peritonite, resultante da perda de integridade

do trato gastrointestinal. A peritonite terciária é a infecção recorrente da cavidade peritoneal mesmo após o tratamento cirúrgico. (SARTELLI et al., 2017).

A peritonite é emergência cirúrgica comum, atuando como um dos principais responsáveis por mortes não traumáticas nos setores de emergências hospitalares em todo o mundo. O diagnóstico precoce, o controle adequado do foco infeccioso e uso de terapia antimicrobiana apropriada são os pilares do tratamento da peritonite. (MCISAAC et al., 2017)

A maioria das infecções peritoneais é causada por bactérias gram-negativas aeróbias (BGNA) e bactérias anaeróbicas, especialmente *Escherichia coli* (*E. Coli*) e *Bacteróides fragilis* (*B. Fragilis*), *E. coli* predomina durante a fase aguda do processo, ao passo que na fase crônica, quando ocorre a formação de abscessos, é a predominância de bactérias anaeróbicas, *B. fragilis* e principalmente os enterococos. (GONNERT et al., 2012).

A análise microbiológica intra-abdominal em pacientes críticos com sepse abdominal internados na UTI foi avaliada por Ruiter J. et al.(2009). O líquido abdominal foi encaminhado para cultura microbiana de 221 dos 239 pacientes admitidos com sepse abdominal. As BGNA foram encontradas em 53% das culturas do líquido abdominal tomadas no momento da operação, das quais 45% eram *E. coli*; Em 36% dos pacientes, mais de um BGNA foi encontrado. A incidência de BGNA foi a maior em perfurações colorretais (68,6%) e apendicite perfurada (77,8%) e a menor na perfuração gastroduodenal (20,5%). As bactérias Gram-positivas foram encontradas em 42,5% das culturas de líquido abdominal e, mais frequentemente, em perfurações colorretais (50,0%).

E. Coli é o microrganismo mais comumente isolado de pacientes em mais de 50% dos casos devido à maioria das infecções intra-abdominais resultarem de perfurações do trato gastrointestinal. Porém, outros bacilos entéricos Gram negativos são detectados, incluindo espécies de *Klebsiella* e *Enterobacter*. Bacilos Gram negativos não coliformes, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*, podem também ser isoladas nessas infecções (LAGU et al., 2012).

A incidência de formação de abscessos após cirurgias abdominais é menor que 1-2%. O risco aumenta para 10-30% nos casos de perfuração de alças, contaminação fecal significativa, isquemia, atraso no diagnóstico e terapia, além da existência de imunossupressão. A formação de abscessos é a principal causa de infecções persistentes e desenvolvimento de septicemia. (BUYNE et al., 2006).

Geralmente a microbiologia de abscessos abdominais é polimicrobiana. Parece que enquanto que a geração de endotoxina anaeróbios facultativos, tais como *E. coli*, é responsável para a fase de peritonite aguda, os anaeróbios obrigatórios, tais como *B. fragilis*,

são responsáveis pela formação de abscessos tardio. Estas bactérias agem em sinergia: ambos são necessários para produzir um abscesso e o anaeróbio obrigatório pode aumentar a letalidade de um inoculo de outra forma não letal do microrganismo facultativa. A maioria dos abscessos viscerais (por exemplo, hepáticos e esplênicos) são polimicrobianos - aeróbio, anaeróbio, Gram negativo e positivo. (BROOK et al., 1998)

Os níveis de antibióticos nos abscesso não foram significativamente mais elevados após doses múltiplas do que após uma dose única. Seleção de antibióticos com uma maior capacidade para penetrar abscesso pode ser importante no tratamento de pacientes com infecção abdominal. (GALANDIUK et al., 1995).

2.3 Antibióticoterapia na septicemia e peritonite

Estabilização precoce das funções vitais através de terapia de suporte adequada e tratamento com antibióticos resultaram em melhorias substanciais no resultado do tratamento da sepse grave ao longo das últimas décadas. (BECZE et al., 2015).

As diretrizes internacionais para o gerenciamento de sepse e choque séptico recomendam antibióticos administrados por via intravenosa o mais rápido possível e, ou seja, dentro da primeira hora de início da sepse e a utilização de agentes de amplo espectro com penetração adequada do presumido local de infecção. (SLADE et al., 2003)

Oshima et al. (2015) realizaram um estudo retrospectivo para investigar a validade e a eficácia da terapia empírica precoce com antibióticos no tratamento de pacientes com sepse grave e choque séptico na UTI. As taxas de mortalidade para pacientes com terapêutica empírica inadequado foi de 36,8%, enquanto as taxas de mortalidade para pacientes com tratamento empírico adequado foi de 17,5%. Portanto a utilização terapia empírica adequada de antibióticos é aceitável e esta relacionada com uma melhor sobrevida de pacientes com sepse grave.

A identificação precoce e tratamento imediato são cruciais para melhorar os resultados do tratamento da sepse, porém a taxa de sucesso clínico do uso de antibióticos depende da escolha do agente antimicrobiano, dos patógenos esperados e da taxa de resistência no ambiente clínico. (UMBERGER et al., 2015).

Os pacientes que estão criticamente doentes devem receber terapia antimicrobiana empírica o mais rápido possível, logo que amostras de sangue e urina tenham sido colhidas para cultura. Em pacientes que não estão gravemente doentes, o atraso na terapia com antibióticos até que as amostras do local de infecção abdominal tenham sido obtidas para

cultura pode ser útil para aperfeiçoar o rendimento microbiológico que orienta a seleção subsequente de antibióticos (SOLOMKIN et al., 2010)

Pérez et al. (2015) estudaram a concordância do tratamento antibiótico prescrito na emergência e o antibiótico posteriormente requerido para tratamento definitivo em doentes com critérios de sepse. A presença de concordância foi associada com menor número de reinternações e internações em UTI.

A resposta satisfatória ao tratamento das IIA depende da administração de terapêutica antimicrobiana adequada, bem como medidas clínicas de suporte. Porém esta cada vez mais difícil o tratamento de IIA complicadas devido o surgimento generalizado de organismos multirresistentes. (LIN et al., 2016)

Meropenem, um antibiótico do grupo dos carbapenêmicos, tende a proporcionar eficaz cobertura antibiótica para peritonite bacteriana espontânea em pacientes graves com cirrose e sepse secundária a peritonite. (BROOK et al., 2002) O meropenem é uma das drogas de primeira escolha para início de tratamento empírico em doentes com infecção grave e agente etiológico desconhecido. (TUON et al. 2014)

Os carbapenêmicos têm excelente atividade *in vitro* contra quase todos os agentes patogênicos bacterianos, se configurando como um importante medicamento antimicrobiano no tratamento de infecções graves. (KOBAYASHI et al., 2006)

Analisando, retrospectivamente, cento e dez pacientes em uma UTI que estavam em tratamento para sepse grave e choque séptico, Oshima et al. (2015), observaram que os carbapenêmicos foram selecionados como agentes antimicrobiano com maior frequência (57,3%), seguido por cefalosporinas (22,7%), e penicilinas (21,8%). A antibioticoterapia empírica selecionada era apropriada para 85 (77,3%) pacientes.

As opções razoáveis para a antibioticoterapia empírica inicial na configuração da úlcera perfurada incluem uma combinação de inibidor de beta-lactamase (como ampicilina-sulbactam, ácido ticarcilina-clavulânico ou piperacilina-tazobactam), ou uma combinação de uma cefalosporina de terceira geração e metronidazol. Em áreas onde a prevalência local de organismos de produção de beta-lactamase de espectro estendido é comum, a monoterapia empírica com um carbapenêmico, como ertapenem, imipenem ou meropenem, é apropriada. (VAKIL et al., 2017)

Wong et al (2005) em meta-análise que analisou 40 ensaios controlados randomizados, encontraram 16 diferentes esquemas de uso de antibióticos na peritonite secundária em adultos, e os resultados apontaram melhora clínica equivalente entre os tratamentos.

Uma revisão sistemática identificou 16 ensaios que compararam vários regimes para infecções intra-abdominais complicadas, incluindo ceftriaxona mais metronidazol, piperacilina-tazobactam, ertapenem, doripenem, imipenem-cilastatina, meropenem, ceftolozano-tazobactam mais metronidazol e ceftazidima-avibactam mais metronidazol. O sucesso clínico variou de 75 a 97 por cento e os tratamentos tinham eficácia comparável. (GOLAN et al., 2015).

2.4 Modelos experimentais de peritonite

A produção de septicemia em animais de experimentação é uma forma de mimetizar a doença, possibilitando estudos que produzam evidências que possam ser usadas em seres humanos, permitindo intervenção e conhecimentos que tenham como objetivo o melhor manuseio dessa grave doença na prática médica humana (ZIAJA et al., 2012)

No modelo animal, o desenvolvimento de peritonite e abscessos também é útil para o estudo da septicemia resultante em termos de microbiologia, resposta imunológica e formas terapêuticas (ZIAJA et al., 2012)

O modelo de peritonite fecal em animais de experimentação está entre aqueles que mimetizam a peritonite tanto adquirida na comunidade como pode representar aquela adquirida em ambiente hospitalar, pois utiliza a flora intestinal endógena que habitualmente contamina a cavidade peritoneal quando ocorre a perfuração de víscera por doença no tubo gastrointestinal, se tornando adequado para estudos da evolução natural da doença, assim como possibilita investigações sobre fatores que possam influir na sua história natural. (CARNEIRO et al., 2012),

Atualmente a indução de peritonite pode ser feita de várias formas incluindo a introdução de lipopolissacarídeos (LPS) na cavidade peritoneal, suspensão fecal de diversos microrganismos, incluindo *E. coli* e *B. fragilis*. O material inoculado na cavidade abdominal pode advir do próprio ceco ou de segmentos do intestino grosso. (GIACOMETTI et al., 2006; BUYNE et al., 2006)

Gadelha et al. (2013) induziu peritonite autógena em ratos Wistar por inoculação de solução fecal intraperitoneal, efetuando a ligadura bilateral de carótida (LBC), com o objetivo de produzir dano encefálico que mimetizasse o ocorrido em seres humanos envelhecidos. A morbidade e mortalidade de animais jovens foram menores do que em animais adultos com e sem LBC. Não houve diferença na morbidade e mortalidade entre os ratos adultos com e sem LBC. A resposta imune foi mais eficiente em animais jovens do que em ambos os grupos de

animais adultos, comprovando que a idade é um fator preditor independente de prognóstico frente ao desafio de sepse abdominal. Porém esse estudo não avaliou animais idosos.

Foi demonstrado aumento significativo no número de alterações macroscópicas (aderências e abscessos) nos ratos maduros com e sem LBC quando comparados aos animais jovens, demonstrando que a resposta imune à peritonite fecal dos animais hígidos jovens foi significativamente mais eficiente que a dos ratos adultos com e sem LBC. A análise microbiológica demonstrou clareamento nas culturas dos animais jovens e perfil semelhante de resultados entre os animais adultos com e sem LBC.

Mascena et al. (2014) investigaram a morbidade e mortalidade de ratos com peritonite fecal autógena tratados após sete dias com meropenem intravenoso em ratos Wistar com 06, 12 e 18 meses de idade. Avaliou-se o curso clínico da infecção nos três grupos ao longo de um período de observação de 45 dias; descrevendo os achados da necropsia (presença de abscessos ou coleções) através de inventário da cavidade abdominal e torácica. Os resultados mostraram que nos grupos de animais jovens e adultos a mortalidade e morbidade foram semelhantes após intervenção com dose única de meropenem, enquanto que o grupo de animais idosos (18 meses) não foi possível testar a resposta ao uso do meropenem endovenoso, pois a maioria desses ratos morreu antes mesmo da intervenção antimicrobiana; provavelmente, devido à dose de solução fecal utilizada para indução da peritonite (6,0 ml/kg) ter sido muito alta para esta faixa etária de animais, bem como, pelo uso tardio do antibiótico.

OBJETIVOS

2.5 OBJETIVOS

2.6 Objetivo geral

- Comparar a morbidade e mortalidade de ratos *Wistar* idosos, após a indução de peritonite fecal autógena, em resposta a administração intravenosa de meropenem com 6 e 12 horas, bem como, do grupo controle sem tratamento

2.7 Objetivos específicos:

- Estabelecer a dosagem adequada de suspensão a 10% de fezes para induzir peritonite fecal autógena não letal em ratos machos *Wistar* idosos.
- Comparar a morbidade e a mortalidade entre os grupos, através dos achados de necropsia no inventário da cavidade abdominal e torácica, e hemoculturas, nos grupos de animais submetidos à administração intravenosa de meropenem após 6 e 12 horas da indução de peritonite fecal autógena e do grupo controle sem tratamento.
- Comparar a interferência do uso do meropenem na evolução do peso nos grupos de animais submetidos à administração intravenosa de meropenem após 6 e 12 horas da indução da peritonite fecal autógena e do grupo controle sem tratamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Estudo proposto é do tipo prospectivo, longitudinal, analítico e de intervenção, para estimar a resposta ao uso de meropenem intravenoso na peritonite fecal autógena em ratos Wistar idosos.

3.2 Local de estudo

Núcleo de Investigação Experimental e Biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM-CG).

3.3 População

Ratos machos adultos Wistar (*RattusNovergicus*, *RodentiaMammalia*) com 18 meses de idade.

3.4 Critérios de inclusão

Foram incluídos 30 ratos machos adultos Wistar (*RattusNovergicus*, *RodentiaMammalia*) com 18 meses de idade, sem qualquer doença ou agravo proveniente da colônia de criação do biotério da FCM- CG.

3.5 Critérios de exclusão

Foram excluídos os animais que no momento da indução da peritonite por meio da injeção de solução fecal apresentassem sinais de qualquer fluido orgânico no aspirado da cavidade peritoneal.

Também foram excluídos os animais que desenvolveram desnutrição ou os que apresentarem nas fezes qualquer sinal de processo inflamatório, incluindo pus ou sangue.

3.6 Procedimentos Técnicos

3.6.1 Condições de acondicionamento dos animais

Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno com dimensão de 430x430x200 mm (CxLxA) submetidos às seguintes condições:

- Ficaram expostos a um ambiente com temperatura controlada de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$,
- Às 24 horas foram divididas em um ciclo de luz de 12 horas, seguido de um de escuridão também de 12 horas.
- O acesso a alimentação foi livre nas 24 horas, sendo alimentados com ração balanceada e própria para a espécie de ratos Wistar,
- Também tiveram livre acesso água. (água *ad libitum*)

3.6.2 Condições de Indução da peritonite

No primeiro dia do seguimento foi induzida a peritonite por inoculação intraperitoneal de uma suspensão fecal autógena a 10%%, preparada da seguinte forma:

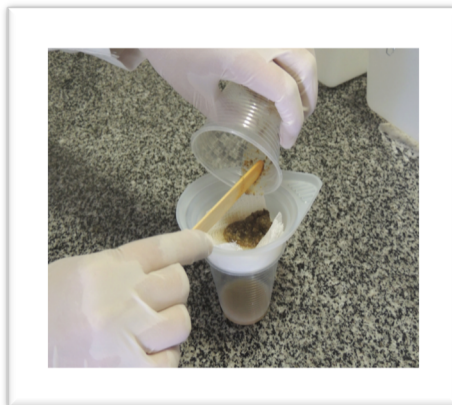
- Dois gramas de fezes serão coletados de cada rato individualmente,
- A amostra de fezes foi dissolvida em 20 ml de solução salina a 0,9%,

Figura 1 – diluição das fezes



- A mistura foi homogeneizada e filtrada com uma gaze para remoção das grandes partículas,

Figura 2 – filtragem da solução fecal



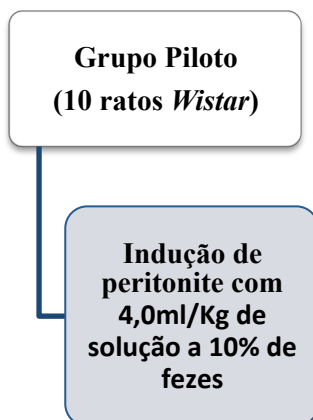
- A solução produzida foi injetada na cavidade intraperitoneal dos trinta (30) ratos Wistar de 18 meses de idade, no quadrante ilíaco esquerdo, usando uma agulha de 30 mm x 1,2 mm.

Figura 3 – Indução da peritonite



A dosagem desta solução fecal administrada intraperitoneal foi determinada inicialmente através de estudo piloto: dez ratos Wistar idosos (18 meses de idade) foram submetidos à administração de 4,0ml/Kg de solução a 10% de fezes; foi avaliado se essa dosagem de solução a 10% de fezes seria capaz de promover infecção intraperitoneal com formação de abscesso em cavidade abdominal e torácica, bem como, promover resultado de hemocultura positiva, porém sem induzir o óbito dos animais. Caso os resultados não fossem satisfatórios a dosagem de solução fecal seria ajustada para maior ou menor concentração de forma a promover indução de peritonite com presença de abscessos em abdome e cavidade torácica. Caso os resultados fossem significativamente satisfatórios, os ratos do grupo piloto seriam incluídos no estudo como grupo controle negativo, ou seja, sem tratamento.

Figura 4 – fluxograma de estratégias do grupo piloto.

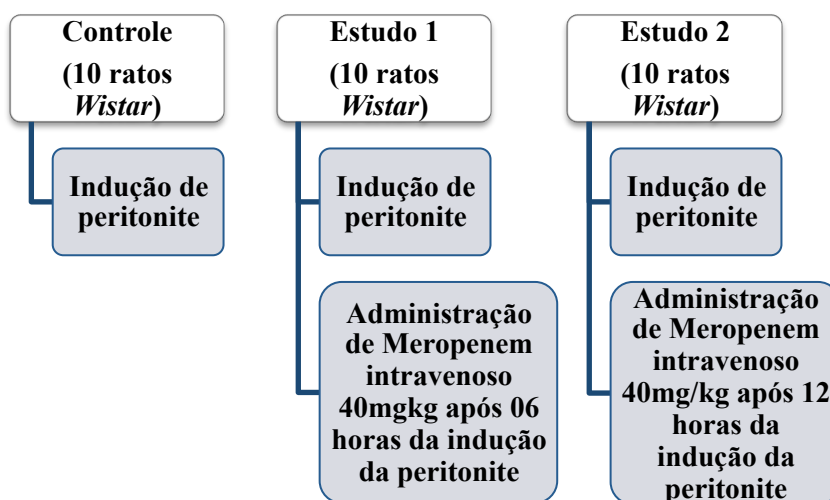


3.6.3 Intervenção com meropenem

Os animais foram divididos em três grupos de 10 ratos machos (Controle, Estudo 1 e Estudo 2) e submetidos à administração de Meropenem, via endovenosa, sempre na dose de 40 mg/kg:

- O grupo Controle não recebeu a dose de meropenem endovenoso após a indução da peritonite,
- O grupo Estudo 1 recebeu a dose de meropenem endovenoso após 06 horas da indução da peritonite
- O grupo Estudo 2 recebeu a dose de meropenem endovenoso após 12 horas da indução da peritonite.

Figura 5 – fluxograma de estratégias de indução de peritonite e tratamento entre os grupos



3.6.4 Monitoramento

Diariamente os animais foram observados pela mesma médica veterinária responsável pelo laboratório de cirurgia experimental da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande:

- Os animais se submeteram a aferição diária do peso corporal com o objetivo de detectar sinais de infecção.

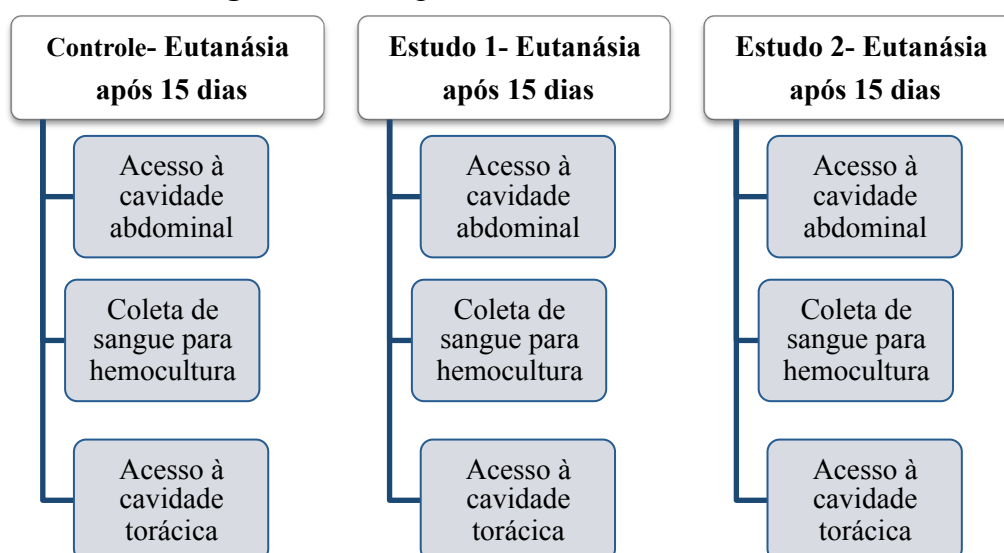
3.6.5 Coleta dos dados

3.6.5.1 A eutanásia

Os animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite foram eutanasiados com a administração endovenosa de cloridrato de Ketamina na dosagem de 50mg/kg e Xilazina na dosagem de 10mg/kg.

Os animais que morreram antes do seguimento previsto também foram submetidos aos mesmos procedimentos a seguir.

Figura 6 – fluxograma de eutanásia e inventário de cavidades



3.6.5.2 Acesso a cavidade abdominal

Na sequencia, foi realizada incisão xifo-pubiana na pele da linha média abdominal, com bisturi de lamina fria Nº 15. As demais camadas da parede abdominal foram seccionadas com tesoura cirúrgica.

Ao acessar a cavidade abdominal procedeu-se o inventário e inspeção intraperitoneal procurando identificar abscessos, aderências e outros sinais macroscópicos de infecção, como pus livre na cavidade.

Foi realizada a documentação fotográfica de todos os achados.

3.6.5.3 Coleta de sangue para hemocultura

Foi realizada punção da aorta abdominal com agulha 30 x 1,5 mm e aspirado 2 ml de sangue. Do aspirado 1,0 ml será desprezado e 1,0 ml injetado em solução de hemocultura (Hemocult I Pediátrico, Laborclin).

Os frascos de cultura foram incubados a 35 ± 2 °C por 24 horas e depois cultivados em ágar sangue. O número de colônias foi expresso em unidades formadoras de colônias por ml (UFC/ml).

3.6.5.4 Acesso a cavidade torácica

Por fim, a cavidade torácica foi acessada por meio de incisão na linha média do tórax com bisturi de lamina fria Nº 15. As demais camadas da parede torácica e no osso esterno foram seccionadas com tesoura cirúrgica.

Ao acessar a cavidade torácica procedeu-se sua inspeção procurando identificar abscessos e outros sinais macroscópicos de infecção, como pus livre na cavidade.

Foi realizada a documentação fotográfica de todos os achados.

Para estratificação da morbidade e mortalidade dos animais frente ao insulto infeccioso de peritonite autógena fecal, foi usado um escore já validado previamente em estudos envolvendo ratos *Wistar*. (GADELHA et al., 2013; MASCENA et al., 2014)

Quadro 1 – Escore de morbidade/mortalidade

Escore	Estratificação da morbidade e mortalidade dos animais
0	animais que morreram de choque séptico nas primeiras 24 horas após indução da peritonite fecal.
1	animais que morreram entre 24 e 48 horas após a indução da peritonite.
2	animais que morreram entre 48 horas e oito dias após a indução da peritonite, com sinais clínicos óbvios de infecção grave.
3	animais que morreram entre o 8º e o 15º dia após a indução da peritonite, com sinais clínicos óbvios de infecção grave.
4	animais que sobreviveram até o 15º dia, mas ainda apresentam hemocultura positiva, com sinais clínicos moderados de infecção e, após a eutanásia, apresentam abscessos dentro das cavidades torácica e abdominal.
5	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite e ainda apresentam hemocultura positiva, sem sinais clínicos de infecção, mas, após a eutanásia, exibem abscessos dentro das cavidades torácica e abdominal.
6	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal e ainda têm hemocultura positiva, sem sinais clínicos de infecção, e após a eutanásia abscessos são observados apenas na cavidade abdominal.
7	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, mas com hemocultura negativa. Não apresentam sinais clínicos de infecção e, após a eutanásia, abscessos são observados dentro das cavidades abdominal e torácica.
8	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, apresentam hemocultura negativa, e após a eutanásia abscessos são observados apenas na cavidade abdominal.
9	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, apresentam hemocultura negativa, e após a eutanásia apenas um único e pequeno abscesso é observado na cavidade abdominal.

10	animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, apresentam hemocultura negativa, e após a eutanásia nenhum abscesso cavitário é observado.
----	---

VARIÁVEIS DO ESTUDO

4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

4.1 Definição de termos

4.1.1 Abscesso em cavidade abdominal

Abscessos peritoneais são definidos a partir de coleção fluida infectada, encapsuladas ou por exsudato fibrinoso, em omento e/ou órgãos viscerais adjacentes.

4.1.2 Abscesso em cavidade torácica

O abscesso pulmonar foi definido como sendo uma área circunscrita de pus ou restos necróticos no parênquima pulmonar, podendo produzir nível de ar-líquido no interior da cavidade.

4.1.3 Hemocultura

No presente estudo utilizaremos a cultura de sangue como parâmetro de diagnóstico e de gravidade da infecção sistêmica induzida pela peritonite autógena nos animais, além de ferramenta para determinar o Perfil das bactérias na cultura do sangue coletado da aorta abdominal.

Os frascos de hemocultura e o aspirado da solução obtida da aorta abdominal foram encaminhados para o laboratório de patologia clínica onde serão incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, após 24h semeados em Ágar sangue

4.2 Operacionalização e categorização das variáveis

4.2.1 Variáveis de controle

- Idade: Todos os ratos Wistar utilizados como cobaias neste estudo terão a idade de 18 meses, a fim de mimetizar indivíduos humanos na faixa etária acima dos 60 anos.

- Gênero: todos os ratos Wistar utilizados nesta pesquisa serão machos, a fim de evitarmos variáveis de confusão, por resposta distintas ao insulto infeccioso da peritonite fecal e/ou ao uso do meropenem, relacionadas ao sexo dos animais.
- Peritonite: Todos os ratos Wistar envolvidos na pesquisa serão submetidos à indução de peritonite fecal autógena através da inoculação intraperitoneal de solução a 10% de fezes na dosagem de 4mg/kg

4.2.2 Variáveis independentes

- Administração de meropenem endovenoso em dose única de 40mg/kg.
- Categorização:
- Controle - Sem tratamento com meropenem
- Estudo 1 - Meropenem administrado após 06 horas da indução da peritonite
- Estudo 2-Meropenem administrado após 12 horas da indução da peritonite

4.2.3 Variáveis dependentes

- Presença de abscessos abdominais: variável qualitativa
- Categorização:
 - 1 – Sim
 - 2- Não
- Presença de abscessos torácicos:: variável qualitativa, binominal.
- Categorização:
 - 1 – Sim
 - 2- Não
- Resultado de hemocultura: variável qualitativa, binominal.
- Categorização:
 - 1 – Positivo

2- Negativo

5 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

As variáveis quantitativas foram expressas por suas médias e desvios padrão da média. As variáveis qualitativas foram expressas por suas frequências absolutas e relativas.

Foi utilizado o teste de Kruskal Wallis para avaliar possível diferença entre os escores de morbidade e mortalidade nos três grupos. Depois foi utilizado o pós teste de Dunn para avaliar possíveis diferenças grupo a grupo.

Para a comparação dos pesos dos animais nos três grupos, foi utilizada a análise de variância (Kruskal Wallis e o pós teste de Dunn). Para avaliação pareada dos pesos em cada grupo nos 15 dias de seguimento foi utilizado os testes T-Student ou Mann-Witney.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa *Graphpad Prism for Windows* (San Diego, CA, www.graphpad.com) versão 7.

Foi estabelecido o valor de $p < 0,05$ para rejeição da hipótese de nulidade.

6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

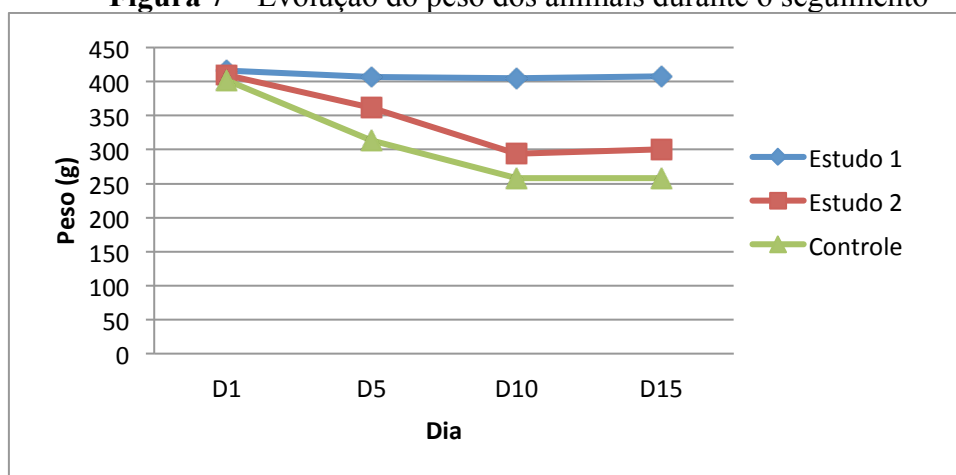
Os ratos receberam cuidados em concordância com os “Princípios de cuidados com animais de laboratório”, respeitando-se os “Princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal” (Cobea). O projeto de investigação foi aprovado no Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA/CESED).

7 RESULTADOS

Dez animais foram incluídos no grupo Pilto que receberam a indução de peritonite com 4mg/Kg de solução fecal a 10%, sendo que três desses animais foram a óbito antes dos 15 dias de seguimento. Todos foram avaliados e desenvolveram formação de abscessos em cavidade abdominal e/ou torácica, bem como, hemocultura positiva, validando esta dosagem como adequada para desenvolver infecção autógena peritoneal em ratos idosos. Esses animais foram incluídos no grupo Controle.

Os grupos Controle, estudo 1 e Estudo 2 apresentaram as médias de peso no início dos experimentos de $402,5 \pm 24,2$, $416,2 \pm 35,4$ e $410,3 \pm 23,0$, respectivamente, não havendo diferença entre as médias dos pesos entre os grupos, de forma a ratificar a semelhança da amostra. ($p=0,8469$ -Kruskal Wallis) (Tabela 1)

Figura 7 – Evolução do peso dos animais durante o seguimento



Fonte: (autor)

A aferição diária dos pesos dos animais mostrou um comportamento semelhante para os grupos Controle e Estudo 2, com perda inicial do peso mais intensa ao redor do 10º dia após indução de peritonite, sem recuperação nos demais dias de seguimento; enquanto o grupo Estudo 1 apresentou discreta perda de peso entre o 1º e 3º dias de evolução após peritonite, com estabilização desses valores de peso durante os demais dias de seguimento. Comparando a medias de peso dos ratos do grupo Estudo 1, no início (D1) e após 15 dias da indução da peritonite (D15), não houve variação significativa ($p=0,3027$). Diferentemente os resultados paraos grupos Controle e Estudo 2, mostraram que houve perda de peso significativa após 15 dias da indução da peritonite. ($p= 0,0156$ e $p= 0,0187$). (Figuras 4, 5,6 e 7; Tabela 1)

Tabela 1 - Comparação entre a média de peso inicial e no final do seguimento em cada grupo.

	Média de peso		P<0,05
	Antes da Indução da Peritonite(g)	Ao Final do Estudo (g)	
Controle	402 ± 24,2	368 ± 28,6	p=0,0156
Estudo 1	416,2 ± 35,4	408 ± 31,5	P=0,3027
Estudo 2	410,3 ± 23,0	375.5 ± 34,8	p=0,0187

Fonte: (Autor)

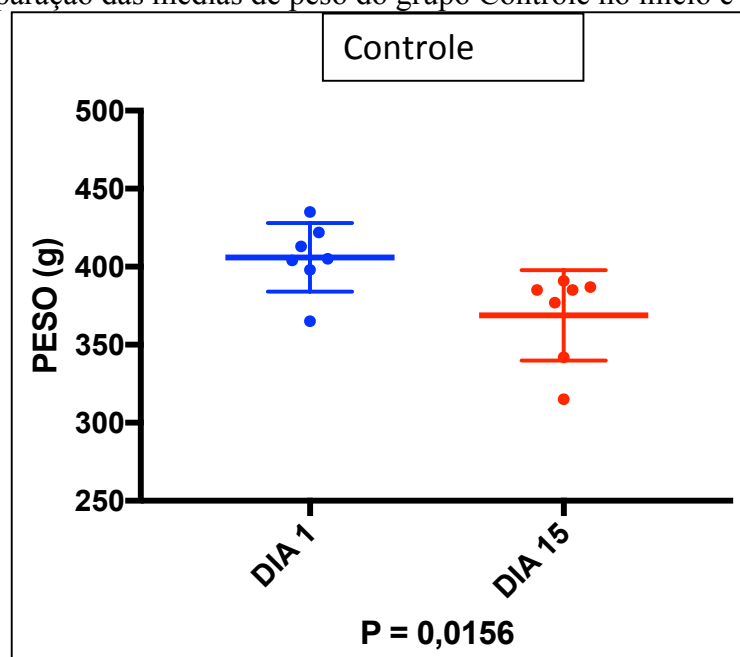
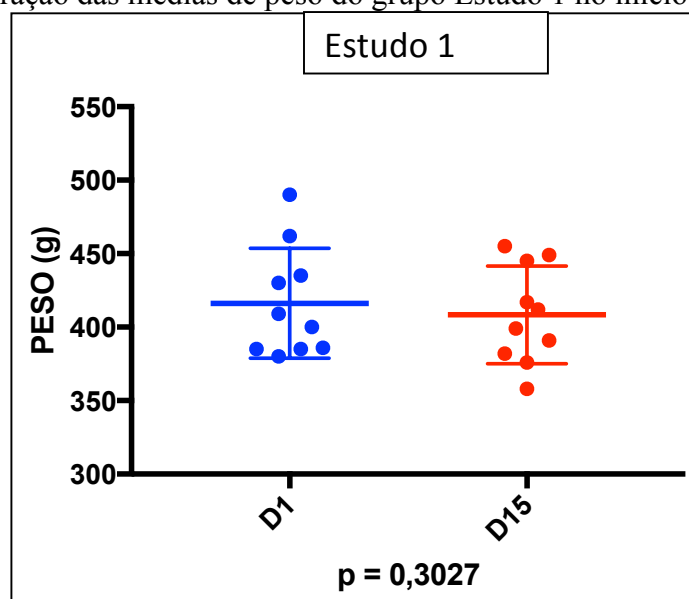
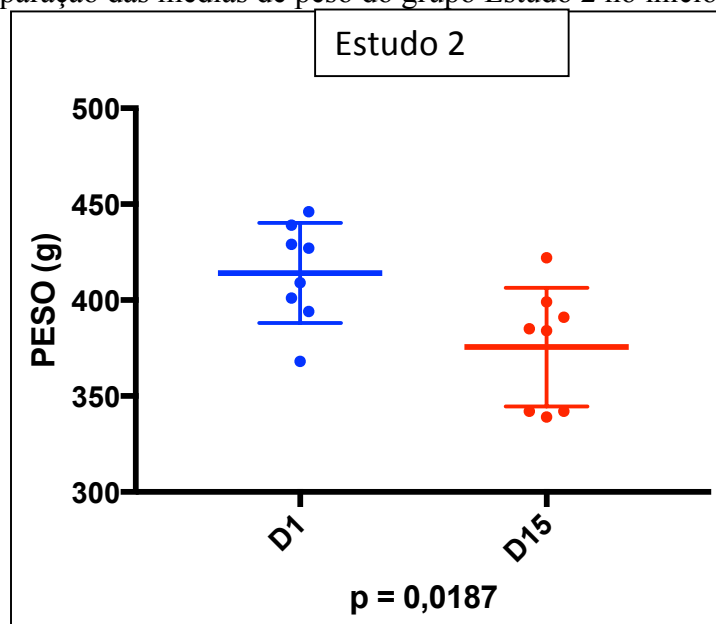
Figura 8– Comparação das medias de peso do grupo Controle no inicio e no final do estudo**Figura 9**– Comparação das medias de peso do grupo Estudo 1 no inicio e no final do estudo

Figura 10 – Comparação das medias de peso do grupo Estudo 2 no inicio e no final do estudo



No grupo Controle, três dos animais morreram entre o terceiro e quarto dia após a indução de peritonite autógena, enquanto no grupo Estudo 2, dois animais morreram entre o 10º e 13º dias de seguimento. Nenhum dos ratos do grupo Estudo 1 morreu durante o seguimento.

Ao avaliarmos os achados nas cavidades abdominal e torácica, foram observadas as seguinte alterações: peritonite difusa com pus livre em cavidade abdominal (figura 8); múltiplos abscessos em mesentério e alças intestinais (figura 9); abscesso abdominal bloqueado (figura 10); abscessos no fígado (figura 11); abscesso roto em abdome (figura 12); abscessos renais (figura 13); múltiplos abscessos pulmonares e cardite purulenta (figura 14); ausência de abscessos abdominais e/ou torácicos (figura 15). No grupo Controle observou-se que nove animais (90%), apresentavam alterações em cavidade abdominal, sendo que destes, quatro (40%) apresentavam-se com peritonite difusa. No grupo Estudo 1, metade dos ratos (50%) não apresentava abscessos em nível de cavidade abdominal e nove (90%) não apresentavam alterações infecciosas em cavidade torácica.

Figura 11 – Peritonite difusa com pus livre em abdome associada à infecção em cavidade torácica (Estudo 2)



Figura 12 – Múltiplos abscessos em mesentério e alças intestinais (Controle)

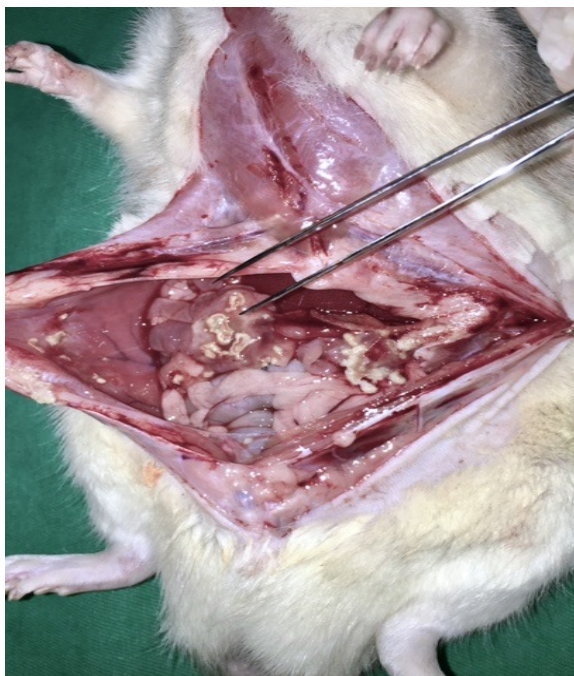


Figura 13 – Abscesso bloqueado intra-abdominal (Estudo 2)

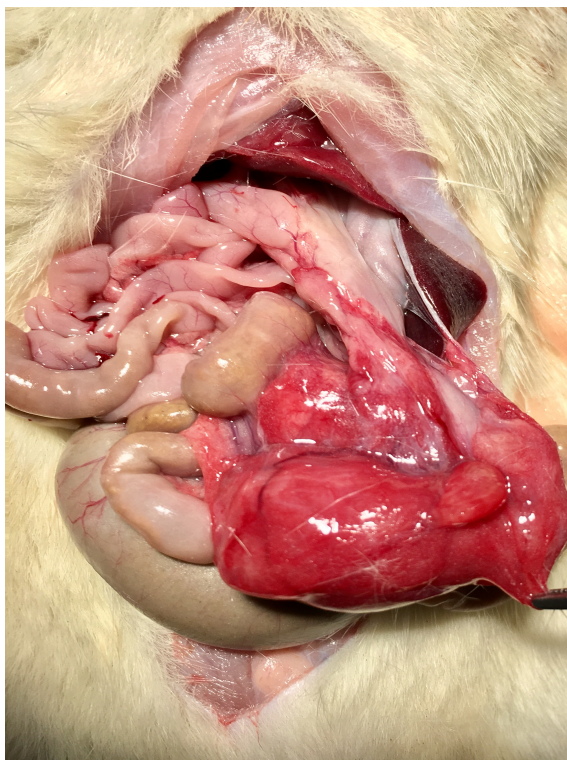


Figura 14– Abscesso hepático (Estudo 1)

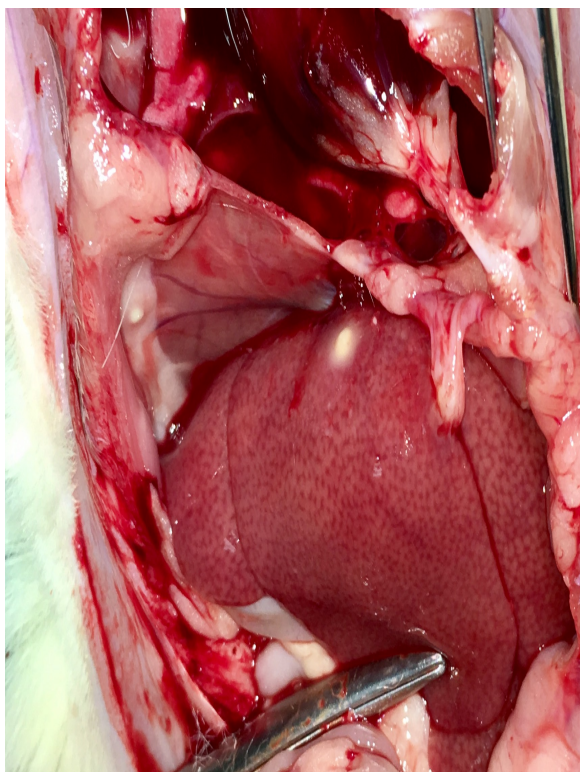


Figura 15 – Abscesso roto abdominal (Controle)

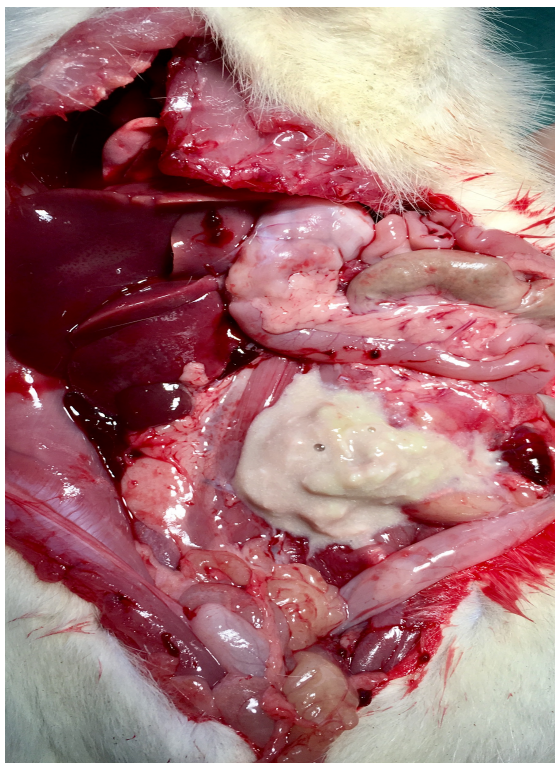


Figura 16 – Abscesso renal (Estudo 2)

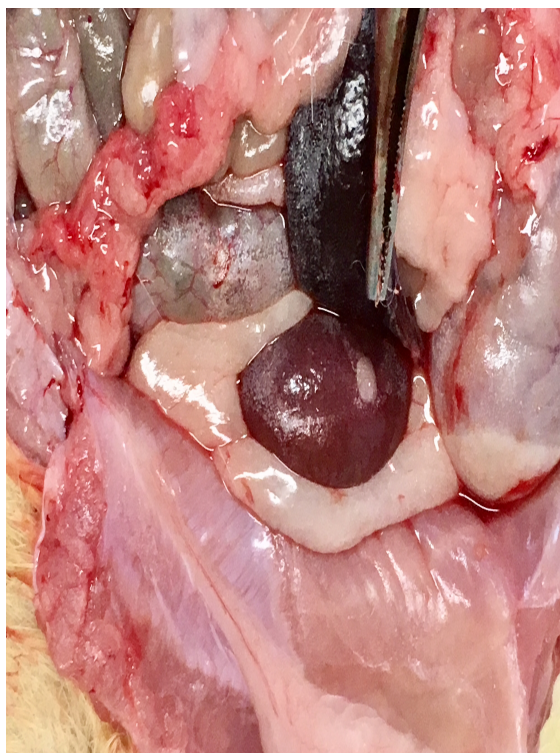


Figura 17 – Múltiplos abscessos pulmonares e cardite purulenta (Estudo 2)

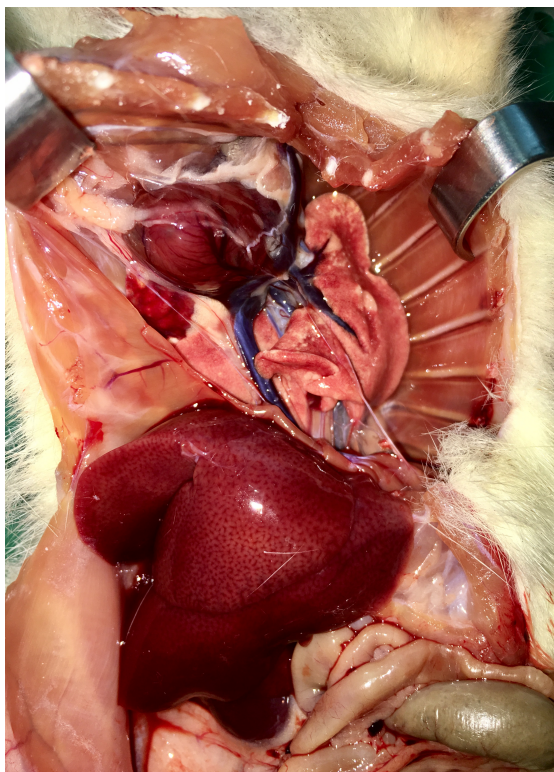


Figura 18 – Cavidades abdominal e torácica sem alterações (estudo 1)



Quadro 2 – resultados dos escores dos diferentes grupos

Controle		Estudo 1		Estudo 2	
Rato 1	4	Rato 1	10	Rato 1	8
Rato 2	6	Rato 2	6	Rato 2	2
Rato 3	4	Rato 3	10	Rato 3	5
Rato 4	2	Rato 4	10	Rato 4	6
Rato 5	4	Rato 5	7	Rato 5	6
Rato 6	4	Rato 6	10	Rato 6	3
Rato 7	4	Rato 7	8	Rato 7	10
Rato 8	2	Rato 8	10	Rato 8	6
Rato 9	4	Rato 9	8	Rato 9	6
Rato 10	2	Rato 10	8	Rato 10	10

A média dos escores de morbidade do grupo Controle, Estudo 1 e Estudo 2 foram respectivamente: $3,6 \pm 1,18$; $8,7 \pm 1,41$ e $6,3 \pm 2,54$ havendo diferença significativa entre as médias. (Kruskal-Wallis $p=0,0002$) (Tabela 2)

Os resultados do grupo Estudo 1 mostraram-se mais expressivos quando comparados aos dos grupos Controle, tendo havido diferença estatisticamente significativa entre os escores de morbidade. (teste de Dunn - $p=0,0001$)(Figura 19 Tabela 3). Os achados do grupo Estudo 2 evidenciam clinicamente maior morbidade quando comparados com o grupo Estudo 2, porém não foi estatisticamente significativa. (teste de Dunn - $p=0,1403$)

Tabela 2 – Resultado das médias dos escores em cada grupo

	Media do escore	$p < 0,05$
Controle	$3,6 \pm 1,18$	* $p=0,0002$ *Kruskal-Wallis = 17,08
Estudo 1	$8,7 \pm 1,41$	
Estudo 2	$6,3 \pm 2,54$	

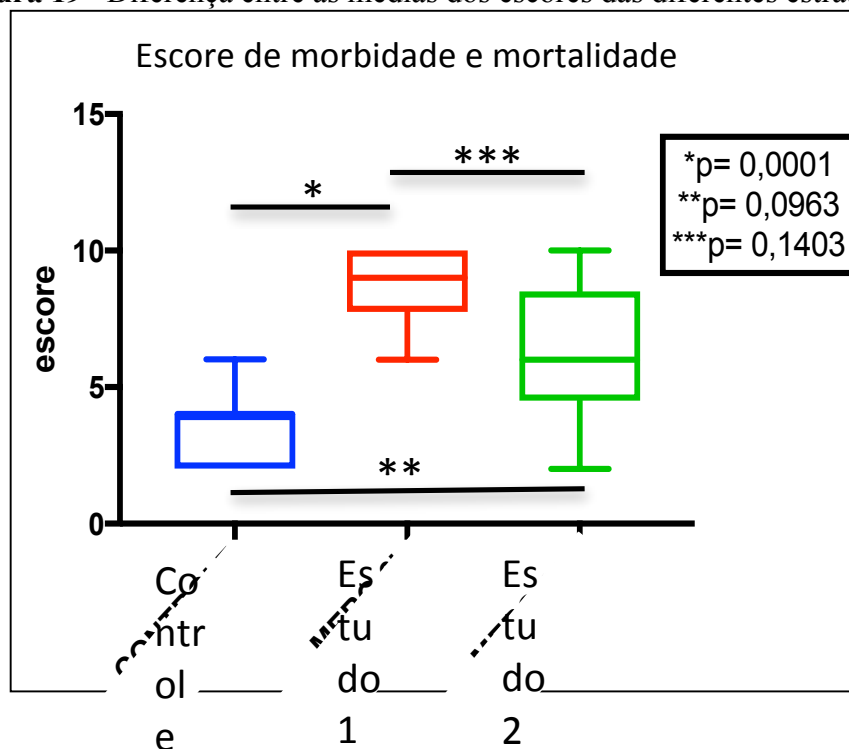
Fonte: (autor)

Tabela 3– Comparação entre o escore de morbidade/mortalidade em cada grupo.

Teste de múltiplas comparações	$p < 0,05$
Controle vs. Estudo 1	$p=0,0001$
Controle vs. Estudo 2	$p=0,0963$
Estudo 1 vs. Estudo 2	$p=0,1403$

Fonte: (autor)

Figura 19– Diferença entre as médias dos escores das diferentes estratégias

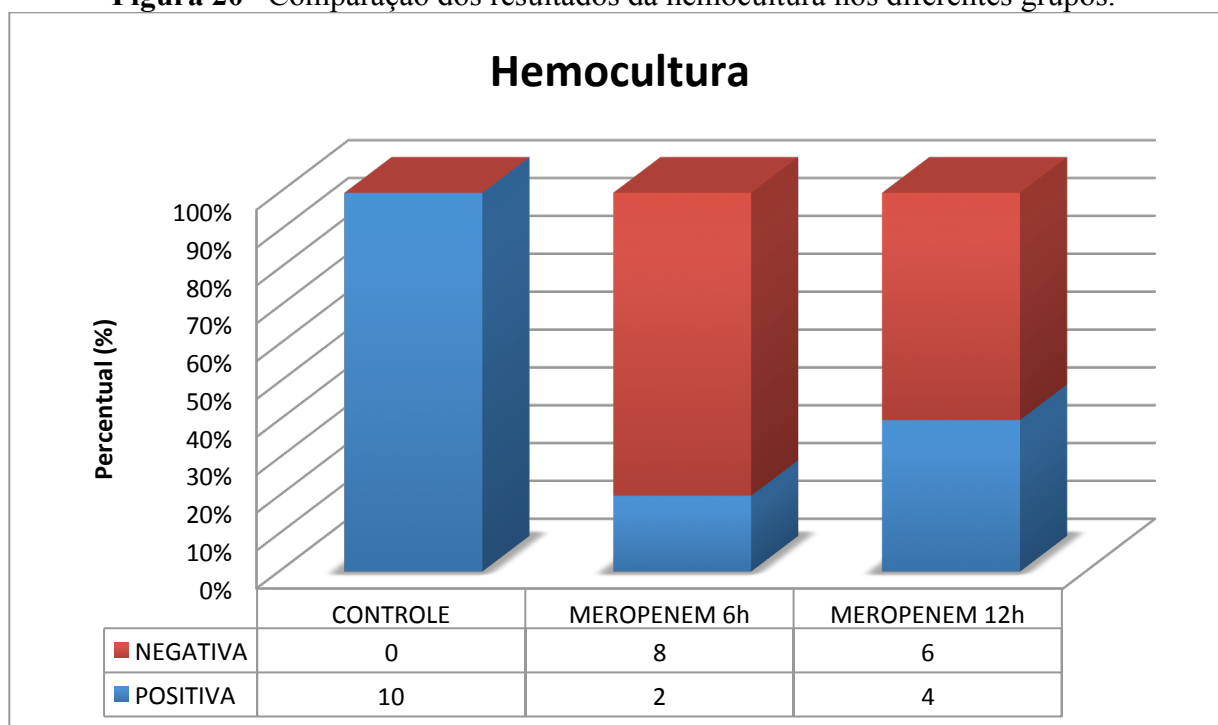


As hemoculturas foram realizadas nos ratos que sobreviveram até o final do seguimento de 15 dias ou na ocasião do óbito, e se revelaram positivas na totalidade dos animais do grupo Controle e negativas em quase a totalidade (80%) dos animais do grupo Estudo 1. ($P=0,002$ ANOVA). No grupo estudo 2, tratado tardiamente, seis ratos (60%) permaneceram com hemoculturas positivas a época da eutanásia. (figura 18 e 19)

Quadro 3 – Resultados das hemoculturas

CONTROLE		MERO 6h		MERO 12h	
Rato 1	Positivo	Rato 1	Negativo	Rato 1	Negativo
Rato 2	Positivo	Rato 2	Positivo	Rato 2	Positivo
Rato 3	Positivo	Rato 3	Negativo	Rato 3	Positivo
Rato 4	Positivo	Rato 4	Negativo	Rato 4	Positivo
Rato 5	Positivo	Rato 5	Negativo	Rato 5	Positivo
Rato 6	Positivo	Rato 6	Negativo	Rato 6	Negativo
Rato 7	Positivo	Rato 7	Negativo	Rato 7	Negativo
Rato 8	Positivo	Rato 8	Negativo	Rato 8	Positivo
Rato 9	Positivo	Rato 9	Positivo	Rato 9	Positivo
Rato 10	Positivo	Rato 10	Negativo	Rato 10	Negativo

Fonte: (autor)

Figura 20– Comparação dos resultados da hemocultura nos diferentes grupos.

8 DISCUSSÃO

O intestino é um sítio de infecções sistêmicas, principalmente pela translocação bacteriana a partir da deterioração da barreira intestinal. Inicialmente acontece alteração na mucosa, que pode se dar por doenças como apendicite, colecistite, diverticulite ou doença inflamatória intestinal. Portanto, o agente causador das infecções intra-abdominais está diretamente relacionado com o órgão sítio da infecção e a flora microbiana intraluminal. (EMMI et al., 2008)

As IIA acometem inicialmente o órgão alvo, porém a depender de sua gravidade, o processo inflamatório se dissemina para o peritônio de forma localizada ou difusa, tendo como pilar de tratamento o uso de antibiótico sistêmico. (SADRAEI et al., 2017) As IIA podem promover resposta inflamatória sistêmica denominada de sepse de foco abdominal. (SARTELLI et al., 2017)

A maioria dos modelos experimentais envolvendo peritonite utiliza a inoculação de solução fecal intra-abdominal, alternativamente alguns autores utilizam a perfuração do ceco ou inoculação de pasta de tecido cecal na cavidade peritoneal de ratos. O objetivo é mimetizar a sepse polimicrobiana com sítio de infecção intra-abdominal similar a que ocorre na população humana. Entretanto os estudos não utilizam animais idosos em suas metodologias (LEE et al., 2016; GADELHA et al., 2013)

A observação de que maioria dos estudos envolvendo animais de laboratório não utiliza amostras de ratos idosos, vai ao encontro do fato de que a expectativa de vida dos humanos vem aumentando. Estima-se que a média de idade, a depender do local de moradia, bem como, da condição socioeconômica, é de 80 anos de idade nos humanos. Os ratos vivem em média 36 meses, podendo-se estabelecer uma relação de um dia de vida do rato para 30 dias de vida dos humanos. (QUINN et al., 2005; SENGUPTA et al., 2013)

Mascena et al, (2014) avaliaram a resposta do uso de meropenem em ratos Wistar de idades crescentes após indução de peritonite, porém antes de iniciar a terapêutica proposta, os animais idosos não resistiram ao insulto infeccioso inicial da peritonite com 6mL/kg da suspensão fecal autógena a 10%, impedindo a comparação destes com os demais grupos de animais jovens e adultos. O tratamento da peritonite fecal autógena grave com dose única de meropenem endovenoso (40mg/kg) alcançou bons resultados em ratos com seis e doze meses de idade, mesmo considerando abscessos residuais em cavidades do abdome e tórax.

Portanto, a produção de modelo experimental com ratos Wistar idosos envolvendo peritonite fecal autógena pela inoculação de solução fecal em cavidade peritoneal continuava

um desafio. As pesquisas envolvendo animais de laboratório devem incluir mais frequentemente amostras de idade senil, visto que o objetivo final é translacionar os resultados obtidos para a população humana que esta com expectativa de vida cada vez maior.

No presente estudo, inicialmente precisou-se determinar a dosagem adequada de suspensão a 10% de fezes para induzir peritonite fecal autógena não letal em ratos machos *Wistar* idosos. O monitoramento do grupo Piloto, com resultados de aferição de peso diário decrescente, a totalidade das hemoculturas positivas, bem como, a presença de abscessos abdominais e pulmonares, validou a dosagem de 4,0ml/Kg de solução a 10% de fezes administrada intraperitoneal, como forma adequada de produzir modelos de ratos *Wistar* idosos com peritonite. Portanto, os resultados recomendam que experimentos laboratoriais envolvendo indução de peritonite em ratos *Wistar* idosos, devam utilizar esta dosagem de solução fecal.

A sepse de foco intra-abdominal apresenta espectro de condições que vão desde a infecção localizada não complicada até a sepse sistêmica grave com infecção peritoneal generalizada. Os princípios no manejo da sepse intra-abdominal complicada incluem diagnóstico rápido, usando técnicas de imagem adequadas, administração de antibióticos de amplo espectro o mais breve possível do diagnóstico e reposição de líquido direcionado para o objetivo. (LOGANATHAN et al., 2015)

A gestão antimicrobiana complementar envolve um equilíbrio delicado de otimização da terapia empírica, ao mesmo tempo em que reduz o uso desnecessário de antibióticos. (COCCOLINI et al., 2017)

Apesar da terapia empírica com antibióticos está associada à presença de bactérias multirresistentes, não se pode perder a janela de oportunidade para diagnosticar, ressuscitar e iniciar um tratamento adequado. Recomenda-se que os antibióticos sejam administrados por via intravenosa o mais rápido possível, dentro da primeira hora de início da sepse, sempre utilizando-se de agentes de amplo espectro e com penetração adequada no sítio de infecção. (RHODES et al. 2017)

No presente estudo, quando se comparou o escore de morbidade entre os três grupos de animais, evidenciou-se que o grupo que recebeu a infusão de meropenem mais precocemente (6 horas) apresentou uma evolução clínica mais favorável frente à peritonite, com negatificação de quase a totalidade das hemoculturas (80%), apesar de apresentarem abscessos residuais intra-abdominais, que quando presentes se mostraram organizados e devidamente bloqueados.

Os animais que receberam a infusão do antibiótico de forma tardia (12 horas) após a indução da peritonite, bem como, os animais que não receberam a intervenção com meropenem, desenvolveram abscessos múltiplos e associados à peritonite purulenta difusa, além de resultados laboratoriais com hemocultura predominantemente positiva.

Os resultados do presente estudo mostram que o uso do meropenem endovenoso administrado precocemente interfere no desfecho da peritonite em ratos idosos, de forma a diminuir conjuntamente o grau de morbidade e mortalidade, avaliadas por escore validado em estudos anteriores desenvolvidos por Gadelha et al. (2013) e Mascena et al. (2014).

Os animais dos três grupos avaliados demonstraram perda de peso inicial, porém o grupo que recebeu precocemente infusão venosa de meropenem apresentou recuperação e estabilização do peso ao final do seguimento de 15 dias. Diferentemente, o grupo tratado tardiamente desenvolveu uma curva decrescente de peso, de forma que não houve diferença significativa quando comparado com o grupo de animais sem tratamento. Portanto, os resultados apontam na direção de que a infusão precoce de meropenem endovenoso na vigência de peritonite influencia positivamente na recuperação do peso frente ao insulto infeccioso em idosos.

Portanto estudos envolvendo sepse e peritonite, principalmente em idosos, devem insistir no desafio de estudar o desfecho clínico do uso precoce da terapia com antibióticos de amplo espectro nesses pacientes.

9 CONCLUSÃO

O uso precoce de meropenem endovenoso em ratos idosos com peritonite fecal autógena induzida com 4mg/kg de solução fecal, está associado ao conjunto de menor morbidade e mortalidade quando comparado com animais não tratados ou tratados tardiamente, mesmo considerando abscessos residuais em cavidade abdominal.

Os dados do presente estudo revelam a observação provocativa, que o início empírico (precoce) de antibioticoterapia endovenosa beneficiaria pacientes idosos com peritonite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTI, Luiz Ronaldo; PETROIANU, Andy. **Evaluation of peritoneal reinfection after fecal peritonitis**. Acta cirurgica brasileira, v. 27, n. 9, p. 630-633, 2012.
- ALVES, Gisele Collyer et al. Risk factors for death among critically ill elderly patients. Revista Brasileira de terapia intensiva, v. 22, n. 2, p. 138-143, 2010.
- ANGUS, Derek C. et al. **Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care**. Critical Care Medicine, v. 29, n. 7, p. 1303-1310, 2001.
- ALBERTI, Corinne et al. **Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study**. Intensive Care Medicine, v. 28, n. 2, p. 108-121, 2002.
- AW, Danielle; SILVA, Alberto B.; PALMER, Donald B. **Immunosenescence: emerging challenges for an ageing population**. Immunology, v. 120, n. 4, p. 435-446, 2007.
- BADAWY, Ahmed Abouelkhair et al. **Effect of alternative antibiotics in treatment of cefotaxime resistant spontaneous bacterial peritonitis**. World Journal of Gastroenterology: WJG, v. 19, n. 8, p. 1271, 2013.
- BECZE, Zsolt; MOLNÁR, Zsolt; FAZAKAS, János. **Can procalcitonin levels indicate the need for adjunctive therapies in sepsis?**. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 46, p. S13-S18, 2015.
- BROCCO, Marcos Célio et al. **Histological features of peritoneal lavage with ropivacaine in rats with fecal peritonitis**. Acta Cirurgica Brasileira, v. 27, n. 2, p. 193-199, 2012.
- BROOK, I.; FRAZIER, E. H. Microbiology of liver and spleen abscesses. Journal of medical microbiology, v. 47, n. 12, p. 1075-1080, 1998.
- BUYNE, Otmar R. et al. **A peritonitis model with low mortality and persisting intra-abdominal abscesses**. International Journal of Experimental Pathology, v. 87, n. 5, p. 361-368, 2006.
- BROOK, Itzhak. **Microbiology of polymicrobial abscesses and implications for therapy**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 50, n. 6, p. 805-810, 2002.
- BRUNKHORST, Frank M. et al. **Effect of empirical treatment with moxifloxacin and meropenem vs meropenem on sepsis-related organ dysfunction in patients with severe sepsis: a randomized trial**. Jama, v. 307, n. 22, p. 2390-2399, 2012.
- CARNEIRO, Bruno Gustavo Muzzi Carvalho et al. **Estudo comparativo entre diversos tipos de tratamento para peritonite fecal em rato**. Rev. Col. Bras. Cir, v. 29, n. 1, p. 43-48, 2002.
- CASTAGNOLA, Elio et al. **Susceptibility to antibiotics of aerobic bacteria isolated from**

community acquired secondary peritonitis in children: therapeutic guidelines might not always fit with and everyday experience. *Journal of Chemotherapy*, v. 25, n. 4, p. 213-216, 2013.

COCCOLINI, Federico et al. **Mortality Rate and Antibiotic Resistance in Complicated Diverticulitis: Report of 272 Consecutive Patients Worldwide: A Prospective Cohort Study.** *Surgical Infections*, 2017.

COLLER, F. A.; RANSOM, H. K. **The Treatment of Peritonitis and Peritoneal Abscesses, Section VIII.** Bancroft, Operative Surgery, New York, D. Appleton Century Company, p. 467-520, 1941.

CSÓKA, Balázs et al. **CD39 improves survival in microbial sepsis by attenuating systemic inflammation.** *The FASEB Journal*, v. 29, n. 1, p. 25-36, 2015.

DE GAUDIO, A. R. et al. **Pathophysiology of sepsis in the elderly: clinical impact and therapeutic considerations.** *Current Drug Targets*, v. 10, n. 1, p. 60-70, 2009.

DEJAGER, Lien et al. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis?. *Trends in microbiology*, v. 19, n. 4, p. 198-208, 2011.

DE MARTINIS, Massimo et al. **Inflamm-ageing and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity.** *FEBS letters*, v. 579, n. 10, p. 2035-2039, 2005.

DESSERUD, K. F.; VEEN, T.; SØREIDE, K. **Emergency general surgery in the geriatric patient.** *British Journal of Surgery*, v. 103, n. 2, 2016.

EMMI, V.; SGANGA, Gabriele. **Diagnosis of intra-abdominal infections: clinical findings and imaging.** *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*, v. 16, p. 19-30, 2008.

_____. **Clinical diagnosis of intra-abdominal infections.** *Journal of Chemotherapy*, v. 21, n. sup1, p. 12-18, 2009.

FRANCESCHI, Claudio et al. **Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence.** *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 908, n. 1, p. 244-254, 2000.

GADELHA, Diego Nery Benevides et al. **Autogenous fecal peritonitis in Wistar rats with permanent bilateral carotid occlusion: morbidity, mortality and microbiological response.** *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 28, n. 4, p. 299-306, 2013.

GALANDIUK, Susan et al. **Antibiotic penetration of experimental intra-abdominal abscesses.** *The American Surgeon*, v. 61, n. 6, p. 521-525, 1995.

GIACOMETTI, Andrea et al. **Interaction of antimicrobial peptide temporin L with lipopolysaccharide in vitro and in experimental rat models of septic shock caused by gram-negative bacteria.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, n. 7, p. 2478-2486, 2006.

GERARD, Timothy D.; ELY, E. Wesley. **Bacteremia and sepsis in older adults**. Clinics in Geriatric Medicine, v. 23, n. 3, p. 633-647, 2007.

GIUNTA, S. **Exploring the complex relations between inflammation and aging (inflamm-aging): anti-inflamm-aging remodelling of inflamm-aging, from robustness to frailty**. Inflammation Research, v. 58, n. 2, p. 118-118, 2009.

GOLAN, Yoav. **Empiric therapy for hospital-acquired, Gram-negative complicated intra-abdominal infection and complicated urinary tract infections: a systematic literature review of current and emerging treatment options**. BMC Infectious Diseases, v. 15, n. 1, p. 313, 2015.

GONNERT, Falk A. et al. **Characteristics of clinical sepsis reflected in a reliable and reproducible rodent sepsis model**. Journal of Surgical Research, v. 170, n. 1, p. e123-e134, 2011.

GORBACH, Sherwood L.; BARTLETT, John G. **Anaerobic infections**. New England Journal of Medicine, v. 290, n. 22, p. 1237-1245, 1974.

GOVINDAN, Sushant et al. **Mobilization in severe sepsis: an integrative review**. Journal of Hospital Medicine, v. 10, n. 1, p. 54-59, 2015.

HERNÁNDEZ, Cristina et al. **Clinical characteristics and outcome of elderly patients with community-onset bacteremia**. Journal of Infection, v. 70, n. 2, p. 135-143, 2015.

HOLZHEIMER, R. G.; DRALLE, H. **Antibiotic therapy in intra-abdominal infections-a review on randomised clinical trials**. European Journal of Medical Research, v. 6, n. 7, p. 277-291, 2001.

IWASHYNA, Theodore J. et al. **Population burden of long-term survivorship after severe sepsis in older Americans**. Journal of the American Geriatrics Society, v. 60, n. 6, p. 1070-1077, 2012.

JOLY-GUILLOU, Marie-Laure et al. **Comparative in vitro activity of Meropenem, Imipenem and Piperacillin/tazobactam against 1071 clinical isolates using 2 different methods: a French multicentre study**. BMC Infectious Diseases, v. 10, n. 1, p. 72, 2010.

KREGER, Bernard E.; CRAVEN, Donald E.; MCCABE, William R. Gram-negative bacteremia: IV. **Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients**. The American Journal of Medicine, v. 68, n. 3, p. 344-355, 1980.

KREIMER, Flávio et al. **Therapeutical and inflammatory response in rats with secondary peritonitis and topical use of ampicillin/sulbactam**. Acta Cirurgica Brasileira, v. 20, p. 31-39, 2005.

KOBAYASHI, K. et al. **Efficacy and safety of meropenem plus tobramycin followed by meropenem plus vancomycin for treating peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis**. In: Advances in peritoneal dialysis. Conference on Peritoneal Dialysis. 2005. p. 65-68.

KOVACS, Elizabeth J. et al. **Aging and innate immunity in the mouse: impact of intrinsic and extrinsic factors.** Trends in Immunology, v. 30, n. 7, p. 319-324, 2009.

KUHAJDA, Ivan et al. **Lung abscess-etiology, diagnostic and treatment options.** Annals of Translational Medicine, v. 3, n. 13, 2015.

LIN, Shang-Yi et al. **Recent developments in antibiotic agents for the treatment of complicated intra-abdominal infections.** Expert opinion on pharmacotherapy, v. 17, n. 3, p. 339-354, 2016.

LOGANATHAN, Arun. **Intra-abdominal sepsis.** Surgery (Oxford), v. 33, n. 11, p. 553-558, 2015.

LAGU, Tara et al. **Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007.** Critical care medicine, v. 40, n. 3, p. 754-761, 2012.

LORD, Janet M. et al. Neutrophil ageing and immunosenescence. Mechanisms of ageing and development, v. 122, n. 14, p. 1521-1535, 2001.

MARSHALL, John C. **Intra-abdominal infections.** Microbes and infection, v. 6, n. 11, p. 1015-1025, 2004.

MARTIN, Greg S. et al. **The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000.** New England Journal of Medicine, v. 348, n. 16, p. 1546-1554, 2003.

MARIK, Paul E. **Early management of severe sepsis: concepts and controversies.** Chest, v. 145, n. 6, p. 1407-1418, 2014.

MASCENA, Guilherme Veras et al. **Severe autogenously fecal peritonitis in ageing Wistar rats. Response to intravenous meropenem.** Acta Cirurgica Brasileira, v. 29, n. 9, p. 615-621, 2014.

MCISAAC, Daniel I. et al. **Association of delay of urgent or emergency surgery with mortality and use of health care resources: a propensity score-matched observational cohort study.** Canadian Medical Association Journal, v. 189, n. 27, p. E905-E912, 2017.

MOCHEGANI, Eugenio; MALAVOLTA, Marco. **NK and NKT cell functions in immunosenescence.** Aging Cell, v. 3, n. 4, p. 177-184, 2004.

MENICHETTI, F.; SGANGA, Gabriele. **Definition and classification of intra-abdominal infections.** Journal of Chemotherapy, v. 21, n. sup1, p. 3-4, 2009.

MONTANARO, Nicholas. **Sepsis Resuscitation: Consensus and Controversies.** Critical care nursing quarterly, v. 39, n. 1, p. 58-63, 2016.

NEVIERE, Remi; PARSONS, Polly E.; FINLAY, Geraldine. **Sepsis syndromes in adults: Epidemiology, definitions, clinical presentation, diagnosis, and prognosis.** 2016.

OSHIMA T, KODAMA Y, TAKAHASHI W, HAYASHI Y, IWASE S, KURITA T, SAITO D, YAMAJI Y, ODA S - **Empiric Antibiotic Therapy for Severe Sepsis and Septic Shock.**

Surg Infect (Larchmt). 2015

OTT SR, ALLEWELT M, LORENZ J, et al. **Moxifloxacin vs ampicillin/sulbactam in aspiration pneumonia and primary lung abscess.** Infection 2008

PAWELEC et al - **Immunosenescence: impact in the young as well as the old?** MechAgeing Dev. 1999.

PERA A, CAMPOS C, LÓPEZ N, HASSOUNEH F, ALONSO C, TARAZONA R, SOLANA R. - **Immunosenescence: Implications for response to infection and vaccination in older people.** Maturitas. 2015.

PERDUE PW, PERDUE PW, KAZARIAN KK, NEVOLA J, LAW WR, WILLIAMS T. **The use of local and systemic antibiotics in rat fecal peritonitis.** J Surg Res. 1994.

PIDHIRNYĬ IA, BARYLIAK R, MAKOVETS'KYĬ I, SHERSHEN' H, PIDHIRNA M. **Possibilities of combined and isolated application of carbapenems in patients with secondary wide spread peritonitis.** Klin Khir. 2009.

QUINN R et al. **Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years?** Nutrition. 2005.

REIS MACHADO J, SOAVE DF, DA SILVA MV, DE MENEZES LB, ETCHEBEHERE RM, MONTEIRO ML, ANTÔNIA DOS REIS M, CORRÊA RR, CELES MR. **Neonatal Sepsis and Inflammatory Mediators.** Mediators Inflamm.2014;2014:269681. Epub 2014.

ROBBY MARKWART et al - **Immunosuppression after Sepsis: Systemic Inflammation and Sepsis Induce a Loss of Naïve T-Cells but No Enduring Cell-Autonomous Defects in T-Cell Function** PLoS One. 2014.

RHODES A et al. **Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016.** Crit Care Med 2017.

ROLAND PH SCHMITZ, PETER M KELLER, MICHAEL BAIER, STEFAN HAGEL, MATHIAS W PLETZ, AND FRANK M BRUNKHORST -**Quality of blood culture testing - a survey in intensive care units and microbiological laboratories across four European countries** - Crit Care. 2013; 17(5): R248. Published online 2013.

RUITER J, WEEL J, MANUSAMA E, KINGMA WP, VAN DER VOORT PH. **The epidemiology of intra-abdominal flora in critically ill patients with secondary and tertiary abdominal sepsis.** Infection.2009.

SANTOS JR.JCM.**Peritonite _ Infecção Peritoneal e Sepse** - Rev bras Coloproct,2001.

SARTELLI, Massimo et al. **Management of intra-abdominal infections: recommendations by the WSES 2016 consensus conference.** World Journal of Emergency Surgery, v. 12, n. 1, p. 22, 2017.

_____. **Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS**

Study). World Journal of Emergency Surgery, v. 10, n. 1, p. 61, 2015.

SENGUPTA, Pallav. **The laboratory rat**: relating its age with human's. International journal of preventive medicine, v. 4, n. 6, p. 624, 2013.

SEO, Hyewon et al. **Focal necrotizing pneumonia is a distinct entity from lung abscess**. Respiriology, v. 18, n. 7, p. 1095-1100, 2013.

SHARAWY N, LEHMANN C. **New directions for sepsis and septic shock research**. J Surg Res. 2014.

SINGER, Mervyn et al. **The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)**. Jama, v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016.

SOLANA, Rafael; MARIANI, Erminia. **NK and NK/T cells in human senescence**. Vaccine, v. 18, n. 16, p. 1613-1620, 2000.

SOLOMKIN, Joseph S. et al. **Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children**: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, v. 50, n. 2, p. 133-164, 2010.

STARR ME, SAITO M, EVERS BM, SAITO H. **Age-Associated Increase in Cytokine Production During Systemic Inflammation-II: The Role of IL-1 β in Age-Dependent IL-6 Upregulation in Adipose Tissue**. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014.

STARR ME, TAKAHASHI H, OKAMURA D, ZWISCHENBERGER BA, MRAZEK AA, UEDA J, STROMBERG AJ, EVERS BM, ESMON CT, SAITO H. **Increased coagulation and suppressed generation of activated protein C in aged mice during intra-abdominal sepsis**. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2015 Jan 15;308(2):H83-91. doi:10.1152/ajpheart.00289.2014.

THADEPALLI, Haragopal; GORBACH, Sherwood L.; KEITH, Louis. Anaerobic infections of the female genital tract: bacteriologic and therapeutic aspects. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 117, n. 8, p. 1034-1040, 1973.

TUON, Felipe F. et al. A simple mathematical model to determine the ideal empirical antibiotic therapy for bacteremic patients. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 360-363, 2014.

PÉREZ-MORENO MA1, CALDERÓN-HERNANZ B, COMAS-DÍAZ B, TARRADAS-TORRAS J, BORGES-SA M. **Analysis of the concordance of antibiotic treatment for patients with severe sepsis in emergencies**. Article in Spanish Rev Esp Quimioter. 2015.

UMBERGER R1, CALLEN B, BROWN ML. CRIT CARE NURS Q. **Severe sepsis in older adults**. 2015.

VAKIL NB, et al. **Overview of the complications of peptic ulcer disease**. Uptodate 2017.
WROBLEWSKI M, MIKULOWSKI P. Peritonitis in geriatric inpatients, Age Ageing , 1991.

WEINSTEIN, William M. et al. Experimental intra-abdominal abscesses in rats: development of an experimental model. **Infection and Immunity**, v. 10, n. 6, p. 1250-1255, 1974.

WONG PF, et al. **Antibiotic regimens for secondary peritonitis of gastrointestinal origin in adults**. Cochrane Database Syst Rev. 2005 Apr 18;(2):CD004539. Review.PMID: 15846719

YALE D. PODNOSJUAN CARLOS JIMENEZSAMUEL E. WILSON. Intra-abdominal Sepsis in Elderly Persons. Clin Infect Dis (2002) 35 (1): 62-68.July 2002.

YAZBECK MF, DAHDEL M, KALRA A, et al. **Lung abscess: update on microbiology and management**. Am J Ther 2014.

ZIAJA, Marek. Septic encephalopathy. **Current neurology and neuroscience reports**, v. 13, n. 10, p. 383, 2013.

APENDICES

APENDICE I - ARTIGO

ARTIGO FORMATADO SEGUNDO AS ESPECIFICAÇÕES DA ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA (ISSN 0102-8650).

RESPOSTA AO USO DE MEROPENEM INTRAVENOSO APÓS PERITONITE FECAL AUTÓGENA EM RATOS IDOSOS

**Carlos Alberto Figueiredo Filho^I, Célia Maria Machado Barbosa de Castro^{II},
Guilherme Veras Mascena^{III}, Gustavo Ithamar Souto Maior^{IV}, Thárcia Kiara
Beserra Oliveira^V, Carlos Teixeira Brandt^{VI}**

I MSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Professor Assistente, Departamento de Clínica Cirúrgica, Faculdade de Medicina Campina Grande (FCM), Campina Grande-PB, Brasil.

Aquisição e interpretação de dados, redação manuscrita

II PhD. Professor titular da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal de Pernambuco. Orientação e Revisão final

IIIMSc, Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Professor Assistente, Departamento de Cardiologia, Faculdade de Medicina Campina Grande (FCM), Campina Grande-PB, Brasil. Revisão estatística

IVMSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Professor Assistente, Departamento de Cardiologia, Faculdade de Medicina Campina Grande (FCM), Campina Grande-PB, Brasil.

Aquisição de dados

VMSPrograma em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) -PB, Campina Grande-PB, Brasil. Aquisição de dados

VIPhD, Professor Principal, Metodologia Científica e Cirurgia Pediátrica, UFPE, Recife-PE. Diretor científico da FCM, Campina Grande-PB, Brasil. Interpretação de dados, versão em inglês. Revisão final

RESUMO

Objetivo: Avaliar os resultados do uso de meropenem intravenoso na peritonite autógena em ratos idosos.

Métodos: Inicialmente, um piloto com 10 ratos Wistar com 18 meses de idade foi submetido à indução de peritonite autógena com 10% de suspensão de fezes na dose de 4 ml / kg de rato para produzir um modelo experimental de ratos idosos sépticos. Trinta ratos Wistar de 18 meses foram estratificados em três grupos e receberam indução de peritonite fecal: grupo Controle sem tratamento, grupo Estudo 1 e grupo Estudo 2, tratados com meropenem intravenoso com uma dose única de 40 mg/kg de rato. O grupo Estudo 1 recebeu tratamento após seis horas de indução de peritonite e grupo Estudo 2 após doze horas. Os animais que sobreviveram foram seguidos por 15 dias, seguido de eutanazia.

Resultados: A morbidade e mortalidade avaliadas por escore previamente validado foi maior para os grupos Controle e Estudo 2. O grupo Estudo 1 apresentou 80% de hemoculturas negativas, apesar dos abscessos abdominais em quatro animais, enquanto o grupo Estudo 2 apresentou hemoculturas negativas em 60% dos animais, além de apresentar abscessos múltiplos associados a pus livre na cavidade abdominal e / ou torácica. Nenhum dos animais do grupo Estudo 1 (tratado precocemente) morreu, enquanto a mortalidade nos grupos Controle e Estudo 2 foram respectivamente de 30% e 20%.

Conclusões: O uso de meropenem intravenoso após indução de peritonite fecal autógena em ratos idosos obteve melhores desfechos, resultando em um conjunto menor morbidade e menor mortalidade, mesmo considerando os abscessos residuais na cavidade abdominal.

Descritores: Peritonite; Seps; Envelhecimento; Idoso; Carbapenêmicos; Ratos

Introdução

A sepse é definida como uma disfunção de órgãos que ameaça a vida, causada por uma resposta desregulada do hospedeiro frente à infecção¹.

O desfecho desfavorável frente à sepse pode ser atribuído à condição inerente ao paciente, como por exemplo, a idade, comorbidades ou a gravidade da apresentação da doença.^{2,3} Embora a idade sozinha não seja decisiva para o desfecho, deve reconhecer-se que pacientes idosos correm alto risco de desfechos adversos, incluindo a morte⁴.

Os pacientes acima dos 65 anos de idade representam a maioria (60 a 85%) de todos os episódios de sepse; de forma que com o crescente envelhecimento da população, a incidência de sepse tende a continuaraumentando⁵.

As infecções intraperitoneais que afetam pessoas com idade de ≥ 65 anos são de difícil de diagnóstico etiológico, apresentação não habitual, gravidade aumentada e com prognóstico mais reservado que em indivíduos jovens, levando a quadros sépticos sistêmicos. Entretanto a maior parte da pesquisa experimental com ratos *Wistar* para avaliar sepse de foco abdominal e a resposta terapêutica antimicrobiana é conduzida sem utilizar animais idosos^{6,7}.

Ao induzir sepse de foco intra-abdominal por ligadura e perfuração do ceco em ratos *Wistar* jovens e adultos, a fim de investigar os mecanismos de coagulação dependente da idade; observou-se taxa de mortalidade de 92% para os animais adultos e apenas de 28% entre os animais jovens⁸. Comparando animais em diferentes idades expostos a peritonite, observou-se que os animais em idade adulta apresentaram maior morbidade à custa de alterações nas citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6) e anti-inflamatórias (IL-5, IL-11) quando comparados com animais jovens. Porém nenhum desses estudos utilizou em sua metodologia animais idosos⁹.

Ao induzir peritonite autógena em ratos *Wistar* por inoculação de solução fecal intraperitoneal, associado à ligadura bilateral de carótida (LBC) no intuito de mimetizar a senescência de sistema nervoso central, observou-se que a morbidade e mortalidade de animais jovens foram significativamente menores do que em animais adultos com e sem LBC. Não houve diferença na morbidade ou mortalidade entre os ratos maduros com e sem LBC. A resposta imune foi mais eficiente em animais jovens do que em ambos os grupos de animais adultos, comprovando que a idade é um fator preditor independente de prognóstico frente ao desafio de sepse abdominal¹⁰. Porém esse estudo não avaliou animais idosos.

A maioria dos estudos envolvendo animais de laboratório não utiliza amostras de ratos idosos, indo de encontro ao fato de que a expectativa de vida dos humanos vem aumentando. Estima-se que a média de idade, a depender do local de moradia, bem como, da condição socioeconômica, é de 80 anos de idade nos humanos. Os ratos vivem em média 36 meses, podendo-se estabelecer uma relação de 1 dia de vida do rato para 30 dias de vida dos humanos^{11, 12}.

O meropenem é uma das melhores e mais seguras opções para o tratamento antimicrobiano da sepse de foco abdominal¹³.

Desenvolvendo uma linha de pesquisa em infecção experimental e envelhecimento, avaliou-se o resultado do tratamento com meropenem para peritonite autógena induzida em ratos *Wistar* com idades jovem, adulta e senil. Os resultados deste estudo, diferentemente dos estudos citados anteriormente, mostraram que nos grupos de animais jovens e adultos a mortalidade e morbidade foram semelhantes após intervenção com dose única de meropenem no sétimo dia após a indução da peritonite. Porém neste estudo a dosagem de 6ml/kg de solução fecal utilizada para indução de peritonite fecal no grupo de animais idosos e, o tempo (07

dias) entre a indução da peritonite e a primeira intervenção com o meropenem, levaram a mortalidade de quase a totalidade dos animais idosos, antes mesmo da intervenção com o meropenem¹⁴.

Portanto, nenhum estudo experimental até o momento, conseguiu avaliar adequadamente a resposta do meropenem intravenoso na peritonite fecal autógena em ratos Wistar idosos.

O presente estudo pretende verificar se o tempo decorrido entre a indução de peritonite fecal autógena em ratos Wistar idosos e a administração intravenosa de meropenem, tem associação com o aumento da morbidade (alteração de peso, formação de abscessos intra-abdominais e em cavidade torácica) e/ou mortalidade desses animais. Portanto, com esse estudo, esperamos contribuir para uma melhor compreensão de como se comporta o meropenem frente a sepse de foco abdominal, especialmente em idosos.

Métodos

Foram incluídos 30 ratos machos adultos Wistar (*RattusNovergicus*, *RodentiaMammalia*) com 18 meses de idade, sem qualquer doença ou agravo proveniente da colônia de criação do biotério da FCM- CG.

No primeiro dia do seguimento foi induzida a peritonite por inoculação intraperitoneal de uma suspensão fecal autógena a 10%%, preparada da seguinte forma com dois gramas de fezes dissolvidos em 20 ml de solução salina a 0,9%, homogeneizada e filtrada com uma gaze para remoção das grandes partículas.

A solução produzida foi injetada na cavidade intraperitoneal dos trinta ratos Wistar de 18 meses de idade na dosagem 4,0ml/Kg de solução a 10% de fezes, previamente determinada por grupo piloto, sendo capaz de promover indução peritonite com presença de abscessos em abdome e cavidade torácica.

Os animais foram divididos em três grupos de 10 ratos machos (Controle, Estudo 1 e Estudo 2) e submetidos à administração de Meropenem, via endovenosa, sempre na dose de 40 mg/kg:

- O grupo Controle não recebeu a dose de meropenem endovenoso após a indução da peritonite,
- O grupo Estudo 1 recebeu a dose de meropenem endovenoso após 06 horas da indução da peritonite
- O Estudo 2 recebeu a dose de meropenem endovenoso após 12 horas da indução da peritonite.

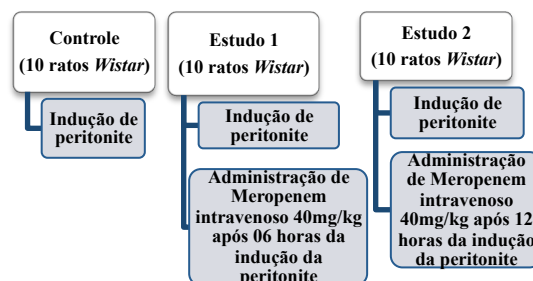


Figura 1 – fluxograma de estratégias de indução de peritonite e tratamento entre os grupos

Os animais que sobreviverem até o 15º dia após a indução da peritonite foram eutanasiados com a administração endovenosa de cloridrato de Ketamina na dosagem de 50mg/kg e Xilazina na dosagem de 10mg/kg.

Os animais que morreram antes do seguimento previsto também foram submetidos aos mesmos procedimentos a seguir:

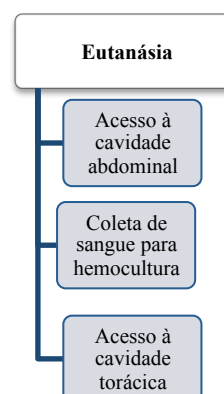


Figura 2 – fluxograma de estratégias após eutanásia ou morte

Ao acessar as cavidades abdominal e torácica procedeu-se o inventário e

inspeção procurando identificar abscessos, aderências e outros sinais macroscópicos de infecção, como pus livre na cavidade.

Foi realizada punção da aorta abdominal com agulha 30 x 1,5 mm e aspirado 2 ml de sangue. Do aspirado 1,0 ml será desprezado e 1,0 ml injetado em solução de hemocultura (Hemocult I Pediátrico, Laborclin).

A bacterioscopia foi feita pelo método Gram e se positiva foi seguida a identificação bioquímica.

Para estratificação da morbidade dos animais frente ao insulto infeccioso de peritonite autógena fecal, foi usado um escore já validado previamente em estudos envolvendo ratos Wistar^{10, 14}.

Escore de Estratificação da morbidade e mortalidade dos animais

Escore 0 - animais que morreram de choque séptico nas primeiras 24 horas após indução da peritonite fecal.

Escore 1 - animais que morreram entre 24 e 48 horas após a indução da peritonite.

Escore 2 - animais que morreram entre 48 horas e oito dias após a indução da peritonite, com sinais clínicos óbvios de infecção grave.

Escore 3 - animais que morreram entre o 8º e o 15º dia após a indução da peritonite, com sinais clínicos óbvios de infecção grave.

Escore 4 - animais que sobreviveram até o 15º dia, mas ainda apresentam hemocultura positiva, com sinais clínicos moderados de infecção e, após a eutanásia, apresentam abscessos dentro das cavidades torácica e abdominal.

Escore 5 - animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite e ainda apresentam hemocultura positiva, sem sinais clínicos de infecção, mas, após a eutanásia, exibem abscessos dentro das cavidades torácica e abdominal.

Escore 6 - animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal e ainda têm hemocultura positiva, sem sinais clínicos de infecção, e após a eutanásia abscessos são observados apenas na cavidade abdominal.

Escore 7 - animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, mas com hemocultura negativa. Não apresentam sinais clínicos de infecção e, após a eutanásia, abscessos são observados dentro das cavidades abdominal e torácica.

Escore 8 - animais que sobreviveram até o 15º dia após a indução da peritonite fecal, apresentam hemocultura negativa, e após a eutanásia abscessos são observados apenas na cavidade abdominal.

Resultados

Os grupos Controle, Estudo 1 e Estudo 2 apresentaram as médias de peso no início do experimento de $402,5 \pm 24,2$, $416,2 \pm 35,4$ e $410,3 \pm 23,0$, respectivamente, não havendo diferença entre as médias dos pesos entre os grupos, de forma a ratificar a semelhança da amostra. ($p=0,8469$ - Kruskal Wallis) (Tabela 1)

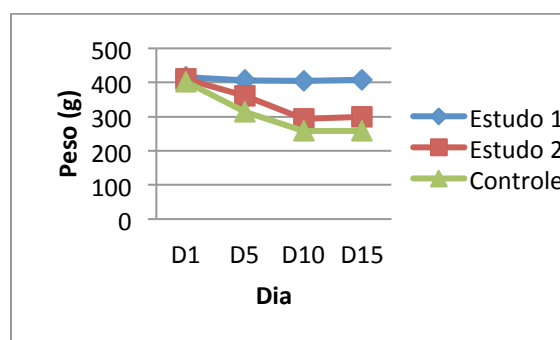


Figura 3 – Evolução do peso dos animais durante o seguimento

A aferição diária dos pesos dos animais mostrou um comportamento semelhante para os grupos Controle e Estudo 2, com perda inicial do peso mais intensa ao redor do 10º dia após indução de peritonite, sem recuperação nos demais dias de seguimento; enquanto o grupo Estudo 1 apresentou discreta perda de peso entre o 1º e 3º dias de evolução após peritonite, com estabilização desses valores de peso durante os demais dias de seguimento. Comparando a médias de peso dos ratos do grupo Estudo 1, no início (D1) e após 15 dias da indução da peritonite (D15), não houve variação significativa

($p=0,3027$). Diferentemente dos resultados para os grupos Controle e Estudo 2, mostraram que houve uma perda de peso significativa após 15 dias da indução da peritonite. ($p=0,0156$ e $p=0,0187$).

	Media de peso		P<0,05
	Antes da Indução da Peritonite(g)	Ao Final do Estudo (g)	
Controle	402 ± 24,2	368 ± 28,6	$p=0,0156$
Estudo 1	416,2 ± 35,4	408 ± 31,5	$P=0,3027$
Estudo 2	410,3 ± 23,0	375,5 ± 34,8	$p=0,0187$

TABELA 1 – Comparação entre a média de peso inicial e no final do seguimento em cada grupo.

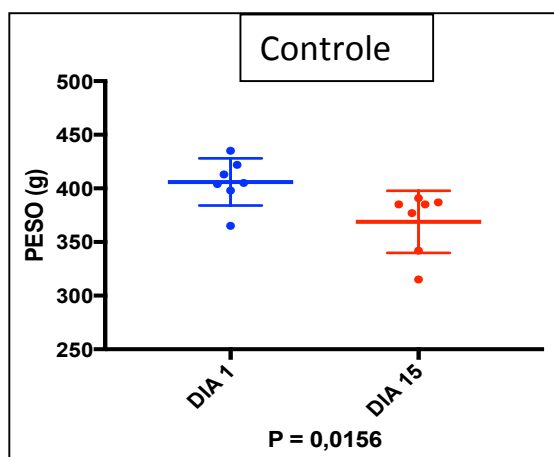


Figura 4– Comparação das médias de peso do grupo Controle no início e no final do estudo

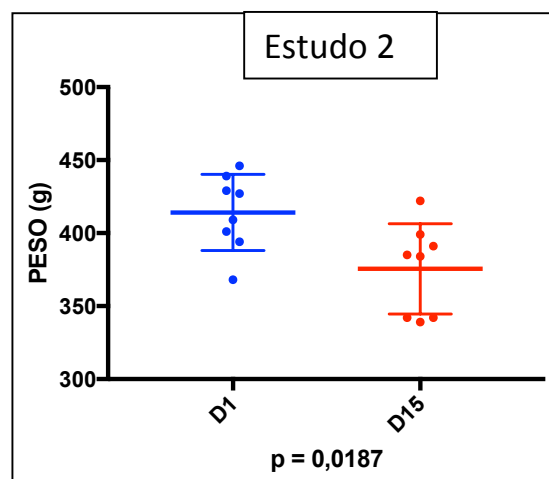


Figura 6– Comparação das médias de peso do grupo Estudo 2 no início e no final do estudo

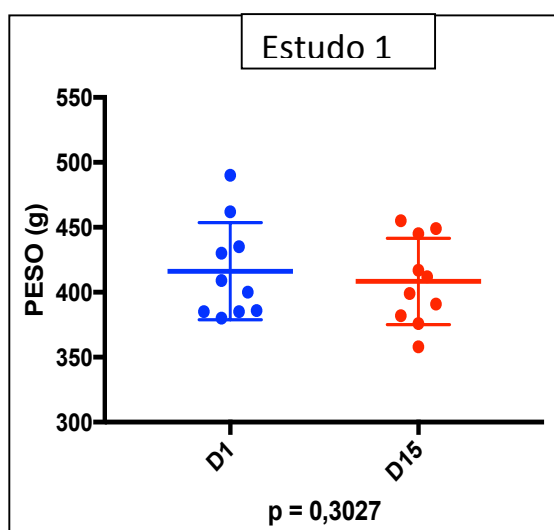


Figura 5– Comparação das médias de peso do grupo Estudo 1 no final do estudo

No grupo Controle, três dos animais morreram entre o terceiro e quarto dia após a indução de peritonite autógena, enquanto no grupo Estudo 2, dois animais morreram entre o 10º e 13º dias de seguimento. Nenhum dos ratos do grupo Estudo 1 morreu durante o seguimento. Ao avaliarmos os achados nas cavidades abdominal e torácica, observamos as seguintes alterações: peritonite difusa com pus livre em cavidade abdominal (figura 7); múltiplos abscessos em mesentério e alças intestinais (figura 8); abscesso abdominal bloqueado (figura 9); abscessos no fígado; abscesso roto em abdome; abscesso hepático (figura 10); múltiplos abscessos pulmonares e cardite purulenta

(figura 11); ausência de abscessos abdominais e/ou torácicos.

No grupo Controle observou-se que nove animais (90%), apresentavam alterações em cavidade abdominal, sendo que destes, quatro (40%) apresentavam-se com peritonite difusa. No grupo Estudo 1, metade dos ratos (50%) não apresentava abscessos em nível de cavidade abdominal e nove (90%) não apresentavam alterações infecciosas em cavidade torácica.

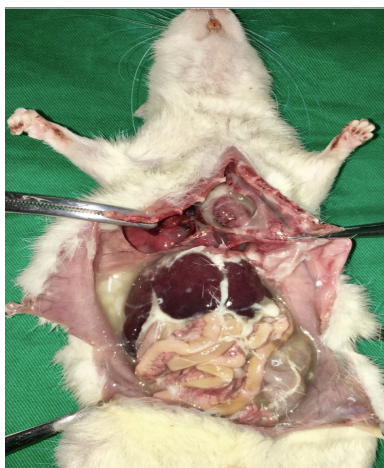


Figura 7 – Peritonite difusa com pus livre em abdome associada à infecção em cavidade torácica (Estudo 2)

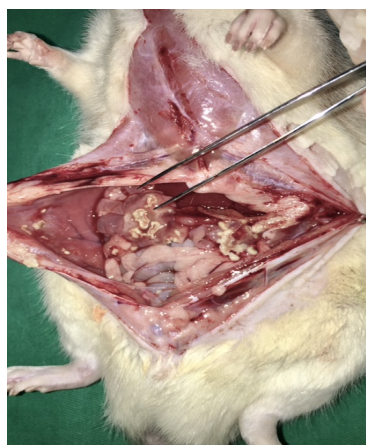


Figura 8 – Múltiplos abscessos em mesentério e alças intestinais (Controle)

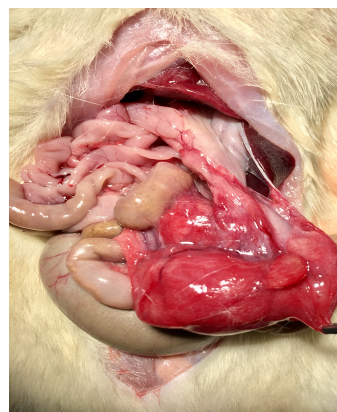


Figura 9 – Abscesso bloqueado intra-abdominal (Estudo 2)

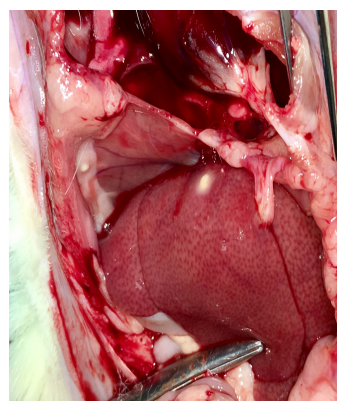


Figura 10– Abscesso hepático (Estudo 1)

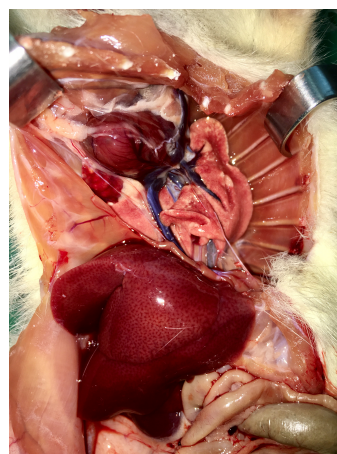


Figura 11 – Múltiplos abscessos pulmonares e cardite purulenta (Estudo 2)

A média dos escores de morbidade do grupo Controle, Estudo 1 e Estudo 2 foram respectivamente: $3,6 \pm 1,18$; $8,7 \pm 1,41$ e $6,3 \pm 2,54$ havendo diferença significativa entre as médias. (Kruskal-Wallis $p=0,0002$) (Tabela 2)

Os resultados do grupo Estudo 1 mostraram-se mais expressivos quando comparados aos dos grupos Controle,

tendo havido diferença estatisticamente significativa entre os escores de morbidade. (teste de Dunn - $p=0,0001$) (Tabela 3). Os achados do grupo Estudo 2 evidenciam clinicamente maior morbidade quando comparados com o grupo Estudo 1, porém não foi estatisticamente significativa. (pós teste de Dunn - $p=0,1403$)

Tabela 2 – Resultado das médias dos escores em cada grupo

	Media do escore	p<0,05
Controle	$3,6 \pm 1,18$	* $p=0,0002$
Estudo 1	$8,7 \pm 1,41$	
Estudo 2	$6,3 \pm 2,54$	

Fonte: (autor) *Kruskal-Wallis = 17,08

Tabela 3– Comparação entre o escore de morbidade e mortalidade em cada grupo.

Teste de múltiplas comparações	p<0,05
Controle vs. Estudo 1	$p=0,0001$
Controle vs. Estudo 2	$p=0,0963$
Estudo 1 vs. Estudo 2	$p=0,1403$

Fonte: (autor)

As hemoculturas foram realizadas nos ratos que sobreviveram até o final do seguimento de 15 dias ou na ocasião do óbito, e se revelaram positivas na totalidade dos animais do grupo Controle, e negativas em quase a totalidade (80%) dos animais do grupo Estudo 1 ($P=0,002$ ANOVA). No grupo estudo 2, tratado tardiamente, seis ratos (60%) permaneceram com hemoculturas positivas a época da eutanásia.

Discussão

O intestino é um possível sítio de infecções sistêmicas, principalmente pela translocação bacteriana a partir da deterioração da barreira intestinal. Inicialmente acontece uma alteração na

mucosa, que pode dar-se por patologias como apendicite, colecistite, diverticulite ou doença inflamatória intestinal. Portanto o agente causador das infecções intra-abdominais, está diretamente relacionado com o órgão sítio da infecção e a flora microbiana intraluminal¹⁵.

A maioria dos modelos experimentais envolvendo peritonite utiliza a inoculação de solução fecal intra-abdominal, alternativamente alguns autores utilizam a perfuração do ceco ou inoculação de pasta de tecido cecal na cavidade peritoneal de ratos. O objetivo é mimetizar a sepse polimicrobiana com sítio de infecção intra-abdominal ocorrida na população humana. Entretanto os estudos não utilizam animais idosos em suas metodologias^{10, 16}.

Avaliando a resposta do uso de meropenem em ratos Wistar de idades crescentes após indução de peritonite, antes de iniciar a terapêutica proposta, os animais idosos não resistiram ao insulto infeccioso inicial da peritonite com 6ml/kg da suspensão fecal autógena a 10%, impedindo a comparação destes com os demais grupos de animais jovens e adultos. O tratamento da peritonite fecal autógena grave com dose única de meropenem endovenoso (40mg/kg) alcançou bons resultados em ratos com seis e doze meses de idade, mesmo considerando abscessos residuais em cavidades do abdome e tórax¹⁴.

Portanto a produção de um modelo experimental com ratos Wistar idosos envolvendo peritonite fecal autógena pela inoculação de solução fecal em cavidade peritoneal continuava um desafio. As pesquisas envolvendo animais de laboratório devem incluir mais frequentemente amostras com idade senil, visto que o objetivo final é translacionar os resultados obtidos para a população humana que esta cada vez mais envelhecida.

No presente estudo, inicialmente precisou-se determinara dosagem adequada de suspensão a 10% de fezes

para induzir peritonite fecal autógena não letal em ratos machos *Wistar* idosos. O monitoramento do Grupo Piloto, com resultados de aferição de peso diário decrescente, a totalidade das hemoculturas positivas, bem como, a presença de abscessos abdominais e pulmonares, validou a dosagem de 4,0ml/Kg de solução a 10% de fezes administrada intraperitoneal, como forma adequada de produzir modelos de ratos *Wistar* idosos com peritonite. Portanto os resultados recomendam que experimentos laboratoriais envolvendo a indução de peritonite em ratos *Wistar* idosos, devem ser promovida com essa dosagem de solução fecal.

A sepse de foco intra-abdominal apresenta um espectro de condições que vão desde a infecção localizada não complicada até a sepse sistêmica grave com infecção peritoneal generalizada. Os princípios no manejo da sepse intra-abdominal complicada incluem diagnóstico rápido usando técnicas de imagem adequadas, administração de antibióticos de amplo espectro o mais breve possível do diagnóstico e ressuscitação de líquido direcionado para o objetivo¹⁷.

Apesar da terapia empírica antibiótica está associada à presença de bactérias multirresistentes, não se pode perder a janela de oportunidade para diagnosticar, ressuscitar e iniciar um tratamento adequado. Recomenda-se que os antibióticos sejam administrados por via intravenosa o mais rápido possível, dentro da primeira hora de início da sepse, sempre utilizando-se agentes de amplo espectro e com penetração adequada no sítio de infecção¹⁸⁻²¹.

No presente estudo, quando se comparou o escore de morbidade entre os três grupos de animais, evidenciou-se que o grupo que recebeu a infusão de meropenem mais precocemente (6 horas) apresentou uma evolução clínica mais favorável frente à peritonite, com negatificação de quase a totalidade das

hemoculturas (80%), apesar de apresentarem abscessos residuais intra-abdominais, que quando presentes se mostraram organizados e devidamente bloqueados.

Os animais que receberam a infusão do antibiótico de forma tardia (12 horas) após a indução da peritonite, bem como, os animais que não receberam a intervenção com meropenem, desenvolveram abscessos múltiplos e associados à peritonite purulenta difusa, além de resultados laboratoriais com hemocultura predominantemente positiva.

Os resultados do presente estudo mostram que o uso do meropenem endovenoso administrado precocemente interfere no desfecho da peritonite em ratos idosos, de forma a diminuir conjuntamente o grau de morbidade e mortalidade avaliadas por escore validado em estudos anteriores^{10, 14}.

Os animais dos três grupos avaliados demonstraram perda de peso inicial, porém o grupo que recebeu precocemente infusão venosa de meropenem apresentou recuperação e estabilização do peso ao final do seguimento de 15 dias. Diferentemente, o grupo tratado tardiamente desenvolveu uma curva decrescente de peso, de forma que não houve diferença significativa quando comparado com o grupo de animais sem tratamento. Portanto, os resultados apontam na direção de que a infusão precoce de meropenem endovenoso na vigência de peritonite influencia positivamente na recuperação do peso frente ao insulto infeccioso em idosos.

Todos os animais tratados precocemente com meropenem sobreviveram até o décimo quinto dia de seguimento. No grupo que recebeu a dosagem venosa do antimicrobiano tardiamente, ocorreram duas mortes (20%), enquanto no grupo não tratado a mortalidade foi de 30% dos animais. Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa na curva de

sobrevida entre os grupos, podemos destacar uma tendência de aumento na sobrevida para os animais idosos que receberam precocemente a dosagem de meropenem endovenoso.

Portanto estudos envolvendo sepse e peritonite, principalmente em idosos, devem insistir no desafio de estudar o desfecho clínico do uso precoce da terapia com antibióticos de amplo espectro nesses pacientes.

Conclusão

O uso precoce de meropenem endovenoso em ratos idosos com peritonite fecal autógena induzida com 4mg/kg de solução fecal, está associado à menor morbidade e mortalidade quando comparado com animais não tratados ou tratados tardiamente, mesmo considerando abscessos residuais em cavidade abdominal.

Os dados do presente estudo revelam a observação provocativa, que o início empírico (precoce) de antibioticoterapia endovenosa beneficiaria pacientes idosos com peritonite.

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al. **The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock** (Sepsis-3) JAMA.2016;315:801–10. doi: 10.1001/jama.2016.0287.
2. Sartelli, Massimo ; Catena, Fausto ; Abu-Zidan, Fikri M et al. **Management of intra-abdominal infections: recommendations by the WSES 2016 consensus.** World Journal of Emergency Surgery : WJES, 2017, Vol.1
3. Sartelli M, Abu-Zidan FM, Catena F, Griffiths EA, Di Saverio S, Coimbra R, et al. **Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intraabdominal infections: a prospective multicenter study** (WISS Study) World J Emerg Surg.2015;10:61. doi: 10.1186/s13017-015-0055-0.
4. Desserud KF, Veen T, Soreide K. **Emergency general surgery in the geriatric patient.**Br J Surg. 2016;103:e52–61. doi: 10.1002/bjs.10044
5. MARTIN GS et al. - **The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000.** N Engl J Med. 2003;348(16):1546
6. YALE D. PODNOSJUAN CARLOS JIMENEZSAMUEL E. WILSON. **Intra-abdominal Sepsis in Elderly Persons.** Clin Infect Dis (2002) 35 (1): 62-68.July 2002
7. SANTOS JR.JCM.**Peritonite – Infecção Peritoneal e Sepsis** - Rev bras Coloproct, 2001; 21(1): 33-41
8. DEJAGER L1, PINHEIRO I, DEJONCKHEERE E, LIBERT C. **Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis?** Trends

- Microbiol. 2011 Apr;19(4):198-208. doi: 10.1016/j.tim.2011.01.001.
9. STARR ME, SAITO M, EVERS BM, SAITO H. **Age-Associated Increase in Cytokine Production During Systemic Inflammation-II: The Role of IL-1 β in Age-Dependent IL-6 Upregulation in Adipose Tissue.** J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014 Oct 24. pii: glu197.
 10. GADELHA DN, MELO MC, OLIVEIRA TK, BRANDT CT. **Autogenous fecal peritonitis in Wistar rats with permanent bilateral carotid occlusion: morbidity, mortality and microbiological response.** Acta Cir Bras. 2013 Apr;28(4):299-306
 11. QUINN R et al. **Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years?** Nutrition. 2005 Jun;21(6):775-7. PMID: 15925305.
 12. SENGUPTA P, et al. **The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's.** Int J Prev Med. Jun 2013; 4(6):624-30. PubMed PMID: 23930179.
 13. MCLAUGHLIN M, ADVINCULA MR, MALCZYNSKI M, QI C, BOLON M, SCHEETZ MH. **Correlations of antibiotic use and carbapenem resistance in enterobacteriaceae.** Antimicrob Agents Chemother 2013 Oct;57(10):5131-3. doi: 10.1128/AAC.00607-13.
 14. MASCENA GV, MELO MC, GADELHA DN, OLIVEIRA TK, BRANDT CT. **Severe autogenously fecal peritonitis in ageing Wistar rats. Response to intravenous meropenem.** Acta Cir Bras. 2014 Sep;29(9):615-21.
 15. EMMI V, SGANGA G. **Diagnosis of intra-abdominal infections: clinical findings and imaging.** Infez Med 2008 Feb;16(Suppl 1):19-30. PMID: 18382148.
 16. LEE MJ, KIM K, JO YH, LEE JH, HWANG JE. **Dose-dependent mortality and organ injury in a cecal slurryperitonitis model.** J Surg Res. 2016 Dec;206(2):427-434. doi:10.1016/j.jss.2016.08.054. Epub 2016 Aug 20
 17. LOGANATHAN, A. **Intra-abdominal sepsis.** Surgery (Oxford), 2015. 33(11), 553-558.
 18. COCCOLINI F. et al. **Mortality Rate and Antibiotic Resistance in Complicated Diverticulitis: Report of 272 Consecutive Patients Worldwide: A Prospective Cohort Study.** Surg Infect (Larchmt). 2017 Jul 21. doi: 10.1089/sur.2016.283.

19. RHODES A et al. **Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016.** Crit Care Med 2017 Mar;45(3):486-552. doi: 10.1097/CCM.0000000000002255.
20. STARR ME, TAKAHASHI H, OKAMURA D, ZWISCHENBERGER BA, MRAZEK AA, UEDA J, STROMBERG AJ, EVERS BM, ESMON CT, SAITO H. **Increased coagulation and suppressed generation of activated protein C in aged mice during intra-abdominal sepsis.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2015 Jan 15;308(2):H83-91. doi:10.1152/ajpheart.00289.2014. Epub 2014 Nov 7.
21. EMMI V, SGANGA G. **Clinical diagnosis of intra-abdominal infections.** J Chemother. 2009 Jul;21(Suppl 1):12-18. PMID: 19622446.

Pesquisa realizada na Unidade de Pesquisa Experimental, Faculdade de Ciencias Médicas (FCM), Campina Grande-PB, Brasil. Parte da tese de mestrado MCh, Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Tutores: Profa.:Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro e Prof. Dr. Carlos Teixeira Brandt.

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA EM PESQUISA





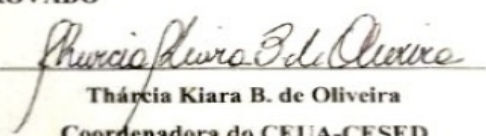
Facisa
③ FCM

PARECER
NÚMERO DO PROJETO/ PROTOCOLO : 6520042016
CIAEP/CONCEA Nº: 01.001.2012
DATA DO PARECER: 20/04/2016

1. Pesquisador Responsável: **Carlos Alberto Figueiredo Filho**
Título do Projeto: PERITONITE FECAL AUTÓGENA EM RATOS IDOSOS. RESPOSTA AO USO DE MEROPENEM INTRAVENOSO.
2. Considerações: Este projeto envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do CESED, em 20 / 04 / 2016.

Vigência do Projeto	01 de janeiro de 2016 a 01 de março de 2017
Espécie / linhagem	Rattus norvegicus, Rodentia mammalia; Ratos Wistar
Nº de animais	90
Peso / idade	18 meses
Sexo	Indeterminado
Origem	Biotério FCM

Parecer Final: APROVADO


Thárcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora do CEUA-CESED



Av. Senador Argemiro de Figueiredo, 1901 - II
CEP: 58104-590 - Campina Grande, PB Fone: 83 2101.
www.cesed.br | facisa@cesed.br | fcm@cesed.br | esac@ciem
CNPJ: 02.108.023/000