

FLÁVIO KREIMER



**RESPOSTA TERAPÊUTICA E INFLAMATÓRIA DE RATOS COM
INFECÇÃO PERITONEAL SUBMETIDOS AO USO TÓPICO DE
AMPICILINA/SULBACTAM**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

ORIENTADOR-INTERNO

PROF. DR. CLÁUDIO MOURA LACERDA

Prof. Titular da Disciplina de Cirurgia Abdominal da Universidade de Pernambuco
Prof. Adjunto da Disciplina de Cirurgia Abdominal do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco

ORIENTADOR-EXTERNO

PROFA. DRA. CÉLIA M. M. B. DE CASTRO.

Chefe do Setor de Microbiologia Clínica do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami-LIKA
Profa Adjunta do Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco

**RECIFE
2004**

Kreimer, Flávio

Resposta terapêutica e inflamatória de ratos com infecção peritoneal submetidos ao uso tópico de Ampicilina/Sulbactam / Flávio Kreimer. – Recife : O Autor, 2004.

xxii, 61 folhas : il., fig., gráf., tab.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Cirurgia, 2004.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Cirurgia - Infecção. 2. Peritonite – Terapêutica inflamatória. 3. Ampicilina/Sulbactam – Aplicação tópica. 4. Dosagem plasmática do óxido nítrico. I.Título.

616.381-002

616.38

CDU(2ed.)

CDD (21ed.)

UFPE

BC2004-564

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Relatório da Defesa de Tese do Dr. Flávio Kreimer, aluno do Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia: Clínica e Experimental. Turma iniciada em 2004.

Às nove horas do dia vinte e sete de dezembro do ano dois mil e quatro, no Auditório Jorge Lobo do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de tese do Dr. Flávio Kreimer, para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia. A comissão Julgadora – eleita pelo Colegiado do Programa e homologada pela Câmara de Pesquisa e Pós-graduação – foi integrada pelos professores: Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE (Presidente da Banca Examinadora); Dr. Jairo de Andrade Lima, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. Heloisa Ramos, Doutora do Departamento de Medicina Tropical do CCS/UFPE; e, para suplentes: interno: Dr. Renato Domelas Câmara Neto, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE, e, finalmente, externo, Vera Magalhães, Doutora do Departamento de Medicina Tropical do CCS/UFPE, tendo, como orientador, o Dr. Cláudio Moura Lacerda de Melo, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. A tese apresentada Mestrando Flávio Kreimer versou sobre: “Resposta terapêutica e inflamatória de ratos com infecção peritoneal submetidos ao uso tópico de ampicilina/sulbactam”. Após, a explanação de 30(trinta) minutos, pelo candidato, justificando a escolha, o objetivo da pesquisa, a metodologia empregada e os resultados obtidos, baseados na análise estatística, ilustrados com datashow, foram realizadas as arguições na seguinte ordem: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora), Prof. Dr. Jairo de Andrade Lima, Profa. Dra. Heloisa Ramos; todas as arguições foram feitas no tempo regulamentar, e respondidas pelo candidato. Ao término das mesmas, a Comissão Julgadora proferiu o seguinte resultado: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora), menção “Aprovado”, Prof. Dr. Jairo de Andrade Lima, menção “Aprovado”, Profa. Dra. Heloisa Ramos, menção “Aprovado”. Conclusão, o candidato, foi aprovado com menção “Aprovado”. Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos do que, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Niége Maria de Paiva Melo, Secretária, assinados depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora. Recife, 27 de dezembro de 2004.

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Jairo de Andrade Lima

Prof. Heloisa Ramos

Niége Maria de Paiva Melo (secretária)

Confere com o Documento

Original em 19/10/2005

Niége M. de Paiva Melo
Sec. Executiva do Programa de
Pós-graduação em Cirurgia
CCS/UFPE
Nível Mestrado Doutorado
Cad. 00112566
SIAPE 1134590

José Lamartine de Andrade Aguiar
Coordenador do Programa de
UFPE Pós-Graduação em Cirurgia

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE**Reitor**

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

Vice-Reitor

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Prof. Celso Pinto de Melo

Centro de Ciências da Saúde - CCS**Diretor**

Prof. José Tadeu Pinheiro

Hospital das Clínicas - HC**Diretor Superintendente**

Prof. Heloísa Mendonça de Moraes

Departamento de Cirurgia**Chefe**

Prof. Sílvio Romero Marques

Programa de Pós-Graduação em Cirurgia**Coordenador**

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Vice-Coordenador

Prof. Sílvio Caldas Neto

Corpo Docente

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz
Prof. Antonio Roberto de Barros Coelho
Prof. Carlos Augusto Mathias
Prof. Carlos Roberto Ribeiro de Moraes
Prof. Carlos Teixeira Brandt
Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo
Prof. Edmundo Machado Ferraz
Prof. Frederico Teixeira Brandt
Prof. Jairo de Andrade Lima
Prof. Joaquim Alves Norões
Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar
Prof. Marcelo Jorge de Castro Silveira
Prof. Nelson Costa Rego Caldas
Prof. Oyama Arruda Frei Caneca
Prof. Renato Dornelas Câmara Neto
Prof. Ricardo José Caldas Machado
Prof. Salvador Vilar Correia Lima
Prof. Saulo Monteiro dos Santos
Prof. Sílvio Romero de Barros Marques
Prof. Sílvio da Silva Caldas Neto
Prof. Tércio Souto Bacelar

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Paulo e Sílvia**,
meus irmãos **Sérgio e Ilana**,
à minha esposa **Mônica**
e aos meus filhos
Amir e Laila, por
darem razão às
minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor **Dr. Cláudio Lacerda**, orientador e mestre, pela orientação e contribuição em minha formação cirúrgica e estímulo para realização deste estudo.

À Professora **Dra. Célia Castro**, orientadora pela valiosa colaboração e análise crítica deste estudo.

Ao amigo **Tarcísio Reis**, pelo estímulo, contribuições oportunas, auxílio no desenvolvimento na linha de pesquisa, na impossibilidade de uma co-autoria, expresso toda minha gratidão.

Aos Professores **Edmundo Ferraz** e **Álvaro Ferraz**, pela contribuição em minha formação cirúrgica, sempre incentivando meu crescimento profissional.

Aos muitos cirurgiões que participaram da minha aprendizagem cirúrgica, motivo de muito orgulho: **Pedro Cavalcanti, Ricardo Machado, Geraldo Wanderley, Josemberg Marins, Francisco Eduardo, Carlos Mathias, Fernanda Fernandez, Pedro Arruda, Geovane Papaleo, Marconi Meira, Maurício Matos, Joaquim Herbênio, Otávio Rosa Borges, Severino César**, dentre tantos outros.

Aos amigos: **Cristiano Souza Leão, Paulo Borges, Edmilson Cardoso, Sílvio Vasconcelos, Carlos Leite, Maurílio Toscano.**

A senhora **Judite**, Sr. **Hélio**, Hérica, Francisco e Hélio Filho, pelo auxílio e incentivo constante.

Ao Professor **Antônio Roberto de Barros Coelho**, Coordenador do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, pelo apoio.

Aos veterinários do NCE, **Adriana e Joaquim**, pelo auxílio nos procedimentos cirúrgicos.

Ao colega **Arthur Medeiros**, pela confecção da figura “modelo da indução de peritonite” utilizado neste estudo.

À **Márcia e Mércia**, pela amizade e diagramação da dissertação.

Às estagiárias do LIKA, **Juliana e Ana Valéria**, pela importante ajuda nos experimentos deste estudo.

À **Wylla Silva**, pelo auxílio nos experimentos no LIKA.

Ao Laboratório **Pfizer Ltda**, pela doação de ração para os ratos.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE GRÁFICOS.....	xvi
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxi

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Justificativa.....	04
1.2 Objetivos.....	04
2. LITERATURA.....	05
2.1 Peritonite secundária.....	06
2.2 Modelos experimentais de peritonites.....	07
2.3 Uso de agentes por via intraperitoneal.....	09
2.3.1 Antibióticos.....	09
2.3.2 Anti-sépticos e outros agentes locais.....	11
2.4 Óxido nítrico.....	13
3. MÉTODOS.....	16
3.1 Caracterização dos animais.....	17
3.2 Descrição dos grupos.....	17
3.3 Desenho metodológico.....	18
3.4 Preparo pré-operatório.....	19
3.5 Anestesia.....	19
3.6 Técnica cirúrgica.....	19
3.6.1 Indução da peritonite bacteriana.....	19
3.6.2 Re-laparotomia.....	20
3.6.3 Coleta de sangue e do lavado peritoneal.....	21

3.7 Pós-operatório.....	23
3.8 Análise estatística.....	24
4. RESULTADOS.....	25
4.1 Dosagem de óxido nítrico.....	26
4.2 Contagem de leucócitos no sangue (eosinófilos, linfócitos, monócitos, e neutrófilos).	27
4.2.1 Eosinófilos.....	27
4.2.2 Linfócitos.....	29
4.2.3 Monócitos.....	30
4.2.4 Neutrófilos.....	32
4.3 Contagem de leucócitos no lavado peritoneal (eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos).....	34
4.3.1 Eosinófilos.....	34
4.3.2 Linfócitos.....	35
4.3.3 Monócitos.....	36
4.3.4 Neutrófilos.....	38
5. DISCUSSÃO.....	40
5.1 Método.....	41
5.2 Resultados.....	43
5.2.1 Mortalidade.....	43
5.2.2 Dosagem plasmática de óxido nítrico (ON).....	43
5.2.3 Contagem de leucócitos no sangue.....	44
5.2.4 Contagem de leucócitos no lavado peritoneal.....	45
5.3 Uso intraperitoneal de antibióticos.....	46
6. CONCLUSÕES.....	47
7. REFERÊNCIAS.....	49
8. ANEXOS.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCS	Centro de Ciências da Saúde
Cm	centímetro
GMP	guanidina mono-fosfato
HC	Hospital das Clínicas
IM	intramuscular
Kg	kilograma
L	litro
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
μL	microlitro
μmol/L	micromol por litro
mg	miligrama
mL	mililitro
NaCl	Cloreto de sódio
NCE	Núcleo de Cirurgia Experimental
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	óxido nítrico
PVPI	polivinil-iodo-pirrolidona
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dosagem de ON.....	26
Tabela 2	Contagem de eosinófilos no sangue.....	28
Tabela 3	Contagem de linfócitos no sangue.....	29
Tabela 4	Contagem de monócitos no sangue.....	31
Tabela 5	Contagem de neutrófilos no sangue.....	32
Tabela 6	Contagem de eosinófilos do lavado.....	34
Tabela 7	Contagem de linfócitos no lavado.....	35
Tabela 8	Contagem de monócitos no lavado.....	37
Tabela 9	Contagem de neutrófilos no lavado.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Biosíntese do óxido nítrico.....	13
Figura 2	Técnica de indução de peritonite secundária em ratos.....	20
Figura 3	Lâminas do lavado peritoneal dos grupos A, B, C e D.....	22
Figura 4	Lâminas do sangue dos grupos A, B, C e D.....	22

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Dosagem de ON.....	27
-------------------------------------	----

Gráfico 2	Contagem de eosinófilos no sangue.....	28
Gráfico 3	Contagem de linfócitos no sangue.....	30
Gráfico 4	Contagem de monócitos no sangue.....	31
Gráfico 5	Contagem de neutrófilos no sangue.....	33
Gráfico 6	Contagem de eosinófilos do lavado.....	35
Gráfico 7	Contagem de linfócitos no lavado.....	36
Gráfico 8	Contagem de monócitos no lavado.....	37
Gráfico 9	Contagem de neutrófilos no lavado.....	39

RESUMO

A peritonite aguda representa uma importante causa de sepsis e óbito nas unidades de terapia intensiva e cirurgia. Classicamente o seu tratamento deve incluir: a administração sistêmica de antibióticos, a remoção mecânica dos

contaminantes e a restauração da integridade gastrintestinal. A utilização de antibióticos diretamente na cavidade peritoneal é controversa. Com objetivo de avaliar o uso terapêutico, intraperitoneal da ampicilina associada ao sulbactam, foram mensurados os níveis plasmáticos do óxido nítrico, bem como a contagem de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no sangue e no lavado peritoneal, utilizando-se modelo de peritonite em ratos (ligadura-transfixação cecal). Vinte quatro ratos Wistar, machos, foram divididos em quatro grupos de seis animais, assim distribuídos: **grupo A:** método de indução de peritonite – soltura da ligadura + tratamento com soro fisiológico; **grupo B:** método de indução de peritonite + soltura da ligadura + tratamento com soro fisiológico acrescido de ampicilina / sulbactam; **grupo C:** método de indução de peritonite + soltura da ligadura-transfixação cecal; e **grupo D:** laparotomia para realização de lavado peritoneal mais coleta de sangue. A ligadura-transfixação do cecum permaneceu por 24 horas, antes do tratamento instaurado. Foi realizada uma relaparotomia nos 18 ratos com coleta de líquido de lavado peritoneal e sangue. Foram dosados os níveis plasmáticos de óxido nítrico e determinado o número de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no sangue e no lavado peritoneal. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) nos níveis de óxido nítrico, bem como no número de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no sangue e no lavado peritoneal, entre os grupos. Neste estudo, concluiu-se que: a utilização de ampicilina associada a sulbactam por via intraperitoneal nos ratos com peritonite fecal: não modificou a sobrevida; não alterou os níveis plasmáticos de óxido nítrico; não alterou a contagem de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos tanto no sangue como no lavado peritoneal.

ABSTRACT

Acute peritonitis represents an important cause of septicemia and death in the Intensive Care Units, and surgical wards. Classically, its treatment includes systemic administration of antibiotics, mechanical removal of the contaminants

and restoration of the gastrointestinal integrity. The antibiotics use into the peritoneal cavity is still subject of controversy. It was measured the serum levels of nitric oxide, as well as the numbers of peripheral white blood cells and from peritoneal wash, with the purpose of evaluating the therapeutically the use of ampicillin and sulbactam into the peritoneal cavity; using a rat model of peritonitis. Twenty-four Wistar male rats were divided into four groups of six animals. **Group A:** induction of peritonitis – treatment with saline solution; **Group B:** induction of peritonitis – treatment with saline solution and ampicillin / sulbactam; **Group C:** induction of peritonitis – release of the ligature and *cecum* perforation; and **Group D:** laparotomy for peritoneal wash and blood collection. The *cecum* perforation was maintained for 24 hours, prior to the proper treatment. A second laparotomy was performed in eighteen animals for collecting specimens of blood and peritoneal wash. It was assessed the nitric oxide serum levels and the numbers of peripheral white blood cells. There was no statistical difference ($p > 0.05$), among the groups regarding the mean nitric oxide levels; as well as the white blood cell numbers either in the peripheral blood and peritoneal wash. From the results, one can conclude that the use of ampicillin associated to sulbactam into the peritoneal cavity, in rats with peritonitis due to faeces contamination, did not alter survival; and not change the serum levels of nitric oxide; and also the blood white cells counting in the peritoneal wash and the periphery.

INTRODUÇÃO

A peritonite é uma das causas mais importantes de sepsis e óbito nas unidades de terapia intensiva e cirurgia¹.

A sepse abdominal ocorre quando um foco infeccioso intra-abdominal desencadeia uma resposta sistêmica. Esta resposta se caracteriza por ativação nos sistemas de cascata (complemento, coagulação, cininas, fibrinólise), células (endoteliais, leucócitos, monócitos, macrófagos e mastócitos) e liberação de mediadores (radicais livres de oxigênio, histamina, eicosanoides, fatores de coagulação e citocinas)².

O óxido nítrico (ON) é uma molécula filogeneticamente muito antiga com funções as mais diversas em fisiologia e patologias humanas³. Na resposta sistêmica a peritonite bacteriana, o ON é sintetizado no endotélio. Relaxa a musculatura vascular e altera o endotélio através da guanidina-monofosfato (GMP), que remove os íons de cálcio intracelulares. Dentro da luz do vaso inibe a adesão de leucócitos e plaquetas. O ON produzido nos polimorfonucleares e macrófagos auxilia na destruição dos microorganismos⁴. É descrito o aumento da produção de ON no plasma de pacientes em choque séptico⁵.

Os leucócitos são as principais células efetoras da inflamação aguda. A resposta imune é mediada por leucócitos que derivam de precursores na medula óssea. Estes precursores dão origem aos leucócitos polimorfonucleares e aos macrófagos, células da resposta imune inata, e aos linfócitos, células da resposta adaptativa. Uma vez amadurecidos, os macrófagos e os mastócitos residem nos tecidos do corpo, mas todas as outras células do sistema imunológico circulam

no sangue. Os macrófagos e os neutrófilos possuem receptores de superfície que evoluíram para exercer o reconhecimento de muitos constituintes comuns de superfícies microbianas. As moléculas bacterianas que se ligam a tais receptores estimulam as células a fagocitarem bactérias e também induzem a secreção de citocinas e de outros mediadores químicos pelos macrófagos⁶.

Apesar de classicamente o tratamento das peritonites fecais incluir a administração sistêmica de antibióticos, a remoção mecânica dos contaminantes e a restauração da integridade gastrointestinal, pesquisas com antibióticos⁷ e antissépticos⁸⁻¹⁰ usados diretamente na cavidade para o tratamento das peritonites têm sido objeto de estudos e controvérsias.

A ampicilina associada ao sulbactam é um agente antimicrobiano, com atividade bactericida, indicada no tratamento da peritonite secundária, pela sua eficácia contra a maioria das bactérias aeróbicas Gram positivas, negativas e também as anaeróbias. O sulbactam previne a inativação da ampicilina pelas beta-lactamases bacterianas, aumentando seu espectro de ação¹¹.

Diversos modelos de indução de peritonite foram utilizados para o estudo de estratégias terapêuticas como: a inoculação de suspensão bacteriana conhecida em peritônio livre; a perfuração intestinal experimental; a isquemia de segmento intestinal isolado; a introdução intraperitoneal de suspensão fecal e a inoculação de cápsula gelatinosa contendo suspensão fecal e bacteriana¹²⁻¹⁴.

1.1 Justificativa

A utilização de antibióticos associados ao líquido de irrigação peritoneal, tem resultados controversos. A ampicilina-subactam é uma associação relativamente nova. Em nosso meio, foi encontrado apenas um estudo avaliando o uso intraperitoneal terapêutico desse antibiótico na peritonite induzida em modelo animal¹³, levando em consideração a prevenção de aderências peritoneais. A inexistência de estudo avaliando dosagem plasmática de óxido nítrico e resposta inflamatória na peritonite em ratos, motivou a realização deste estudo.

1.2 Objetivos

O estudo teve por objetivo avaliar as variações nos níveis plasmáticos do óxido nítrico, bem como a contagem de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no sangue e no lavado peritoneal em ratos com peritonite, após o uso terapêutico, intraperitoneal da ampicilina associada ao sulbactam.

LITERATURA

2.1 Peritonite secundária

A peritonite pode ser classificada quanto à origem em: primária, secundária e terciária. Na primária, também chamada espontânea, não há associação com outras fontes abdominais, secundárias de infecção. A contaminação se dá por via hematogênica, linfática ou pela via transmural. Associada a situações clínicas como: cirrose, tuberculose e as diálises peritoneais¹⁵. A secundária é a forma mais freqüente, representa a infecção da cavidade peritoneal resultante da perda da integridade anatômica do trato gastrointestinal e pode se manifestar como peritonite aguda, pós-operatória ou traumática¹⁶. A terciária é definida como processo infeccioso do abdome em que a deficiência dos mecanismos de defesa do paciente e a falta de controle do processo infeccioso determinam uma peritonite difusa persistente¹⁵.

Estudos microbiológicos do líquido peritoneal em pacientes com peritonite secundária demonstram associação de germes aeróbios e anaeróbios. Essas infecções são geralmente polimicrobianas, sendo a *E. coli* e o *Bacterioides fragilis* freqüentemente encontrados¹⁷.

Os princípios contemporâneos de tratamento da infecção intra-abdominal incluem ressuscitação hemodinâmica, suporte fisiológico ao paciente, administração sistêmica de agentes antimicrobianos contra os patógenos documentados ou prováveis e controle cirúrgico precoce de qualquer fonte de contaminação microbiana com correção dos processos de doenças subjacentes¹⁶.

Em relação aos procedimentos cirúrgicos a serem realizadas é fundamental a avaliação precisa das indicações de suturas, anastomoses ou estomas. O fechamento da cavidade deve ser realizado na ausência de infecção grave, restos de necrose e limpeza satisfatória da mesma; drenagem cavitária parece ineficaz na maioria dos casos¹⁷. As peritoneostomias¹⁸ e a técnica semi-aberta poderão ser utilizadas em casos selecionados; lavagem contínua pós-operatória tem papel controverso. Relaparotomias programadas ou de demanda tem seu papel no tratamento das peritonites, com a indicação cada vez mais freqüente da relaparotomia de demanda, executada quando ocorre piora clínica ou persistência da infecção¹⁷.

2.2 Modelos experimentais de peritonites

Foram desenvolvidos ao longo das ultimas décadas inúmeros modelos animais que simulam as etapas fisiológicas ocorridas durante a peritonite aguda. Peritonite foi induzida em porcos¹⁴, ratos¹⁹, coelhos²⁰ e cães²¹. Os modelos utilizados contribuem para aumentar o conhecimento do processo infeccioso peritoneal e prover dados para melhor avaliar a terapêutica em humanos¹².

Dentre os modelos propostos, alguns evoluem essencialmente com formação de abscessos, enquanto outros são eficazes no desenvolvimento de peritonite bacteriana secundária difusa^{13,14,22}.

O modelo de peritonite mais utilizado atualmente inclui a ligadura do cecum. Wichterman et al.²³, em 1980, propuseram a punção cecal, após ligadura, com propósito de drenar conteúdo fecal na cavidade peritoneal favorecendo o desenvolvimento da peritonite. Outros modelos podem ser citados: inoculação de suspensão bacteriana em peritônio livre, perfuração intestinal experimental¹⁴, ligadura cecal ou apendicular¹⁴, isquemia de segmento intestinal isolado¹ e cápsulas duplas para formação de abscessos cavitários¹².

Estratégias terapêuticas e complicações cirúrgicas puderam ser avaliadas: uso de fios de sutura e anastomoses intestinais²⁵; uso intraperitoneal de anti-sépticos²⁶; antibióticos intra-peritoneais^{27,28} lavagem peritoneal mecânica com solução de NaCl 0,9%²⁹, heparinização³⁰⁻³², além do uso intra-cavitário de inúmeras substâncias³³.

A utilização de material fecal como contaminante é de difícil reprodutibilidade. Cápsula de bário e material fecal e esponjas com coliformes são indutoras de abscessos cavitários. A ligadura-punção do cecum foi descrita como indutora de abscessos e de peritonites generalizadas¹. A ligadura-transfixação proposta inicialmente por Aguiar et al¹, em 1996, foi eficaz em produzir peritonite generalizada em 100% dos ratos estudados.

2.3 Uso de agentes por via intraperitoneal

2.3.1 Antibióticos

O papel dos antibióticos utilizados por via intraperitoneal é controverso. Alguns autores referem benefícios, enquanto outros não têm demonstrado vantagem na prevenção da infecção pós-operatória ou mortalidade³⁴⁻³⁶.

Atkins et al³⁷, em 1976, sugerem que a lavagem peritoneal prolongada com antibióticos oferece benefícios nas peritonites com contaminação grosseira e difusa.

Ericsson et al³⁸, em 1977, avaliando o uso intraperitoneal da kanamicyna enfatizou o risco de seu uso, principalmente em pacientes com doença renal.

Lally et al³⁹, em 1983, em estudo experimental com ratos submetidos a inoculação peritoneal de cápsulas com fezes humanas, não encontraram diferença no número de abscessos formados comparando lavagem com solução salina, clindamicina, gentamicina, ou cefoxitina, concomitantes ao uso sistêmico efetivo de antibióticos parenterais.

Em 1985, os mesmos autores não encontraram diferença na incidência de infecção intra-abdominal em ratos recebendo lavagem peritoneal com adição de gentamicina e em uso de antibioticoterapia sistêmica. A mortalidade não diferiu nos grupos³⁹.

Leiboff & Soroff, em 1987, realizaram revisão de 39 estudos em humanos utilizando diversas soluções para lavagem da cavidade peritoneal, entre 1963 e 1986, entre elas ampicilina, cefalosporina, gentamicina, penicilina, clorafenicol, tetraciclina entre outros. Apesar de resultados favoráveis ao uso da lavagem peritoneal com alguns dos agentes locais na maioria dos estudos (32 trabalhos), foi enfatizada a necessidade de novos trabalhos controlados randomizados e prospectivos que comparem grupos equivalentes³³.

Salvati et al⁸, em 1988, relataram estudo prospectivo com 443 pacientes submetidos à cirurgia de cólon e evidenciaram vantagem com o uso de ampicilina ou kanamicyna na ferida operatória ou intraperitonealmente, desde que sejam utilizados antibióticos, apropriadamente por via oral ou venosa.

Schein et al⁶, em 1988, enfatizaram a necessidade de estudos prospectivos randomizados e controlados para avaliar o papel das lavagens intra-operatórias com anti-sépticos e antibióticos e em 1990, estudaram 87 pacientes com peritonite, concluindo que a lavagem intraoperatória com solução salina ou antibióticos não influenciou no resultado pós-cirúrgico³⁶.

Edmiston et al., em 1990, analisando o impacto do lavado antimicrobiano sobre a estabilidade das populações microbianas mesoteliais observaram uma redução imediata na recuperação de micróbios mesoteliais, efeito este transitório, com os níveis bacterianos se igualando ou excedendo aos níveis do pré-lavado 24 horas após. Sugere ainda que as populações microbianas mesoteliais são resistentes ao lavado peritoneal⁴¹.

Ablan et al., em 1991, estudaram coelhos após inoculação fecal do peritônio e notou redução da mortalidade e do número de abscessos após adição de cefotetan na irrigação peritoneal em uso de antibióticos sistêmicos, 2 horas após contaminação peritoneal⁸.

Perdue et al., em 1994, mostraram maior taxa de sobrevivência após peritonite fecal utilizando ceftriaxona no lavado peritoneal e intramuscular comparado ao seu uso exclusivamente parenteral. Através de dosagem plasmática da ceftriaxona referiram que a ação do antibiótico era primariamente local, já que sua absorção não determinava nível acima da concentração inibitória mínima⁷.

Rosman et al., em 1999, trabalhando com peritonite em ratos referiram redução do crescimento bacteriano, concentração de endotoxinas, formação de abscessos e mortalidade após lavagem peritoneal com adição de imipenem /cilastina³⁴.

Reis, em 2001, estudando a aderência peritoneal, observou melhor controle das aderências com o uso intraperitoneal de ampicilina subactam associada ou não ao ácido hialurônico a 0,8%, entretanto, não notou diferença em relação ao índice de culturas bacterianas positivas¹³.

2.3.2 Anti-sépticos e outros agentes locais

O uso de anti-sépticos instilados na cavidade peritoneal é avaliado há décadas. Foi descrita em 1923 a irrigação peritoneal com solução alcoólica em pacientes sépticos, com diminuição da mortalidade de 50%²⁶.

Ahrenholz & Simmons, em 1979, evidenciaram experimentalmente indução do óbito com polivinil-iodo-pirrolidona (PVPI) não diluído, aumento da mortalidade com doses menores em peritonites por *E. coli* e *E. coli-Hemoglobina*. Notaram diminuição da mortalidade com pré-tratamento da cavidade com PVPI diluído em peritonites por *E. coli*⁴².

Janik et al., em 1982 encontraram diminuição de número e intensidade das aderências após tratamento com povidine em coelhos⁴³.

Schein et al, em 1988, relataram efeitos favoráveis com o uso da Iodopovidona (PVPI) logo após instalação da peritonite, os mesmos resultados não se mantiveram 6 horas ou mais do início do processo infeccioso²⁶.

O uso da clorexidina foi estudado prospectivamente por Vallance & Waldron, em 1985 não sendo encontrado benefício em seu uso intraperitoneal⁴³. Bondar et al, em 2000, encontrou redução significativa na contagem de bactérias e mortalidade com uso de solução de clorexedina 0,05% em ratos com peritonite⁴⁴.

A heparina tem se mostrado capaz de reduzir significativamente as aderências e abscessos em certos tipos de peritonites bacterianas produzidas em ratos. Tal efeito tem sido atribuído ao aumento da atividade fibrinolítica do mesotélio e a sua ação antitrombina, que diminui a deposição de fibrina e previne

trombose dos estomas e linfáticos subperitoneais, favorecendo sua ação de limpeza⁴⁵.

Estudos experimentais tem mostrado diminuição da formação de abscessos e aumento da taxa de sobrevida após uso intra-peritoneal ou subcutâneo da heparina⁴⁶.

2.4 Óxido nítrico

A importância do óxido nítrico (ON) na biologia médica foi reconhecida em 1992, quando a mesma passou a ser denominada “molécula do ano”⁴⁷.

O ON é um mediador geral na comunicação célula a célula. Proporciona influência vasodilatadora contínua, modificando a função das células circulantes, além de atuar como um neurotransmissor. Trata-se de um complexo instável, capaz de atravessar membranas com grande facilidade⁴⁸. A sua ação na imunoregulação está presente na inflamação e nos mecanismos de autoimunidade. Esta molécula tem revolucionado e obrigado revisão de paradigmas da medicina, principalmente em neurologia, cardiologia, nefrologia e gastroenterologia⁴⁹.

É produzida a partir do substrato L-arginina pela enzima síntese do óxido nítrico (NOS).

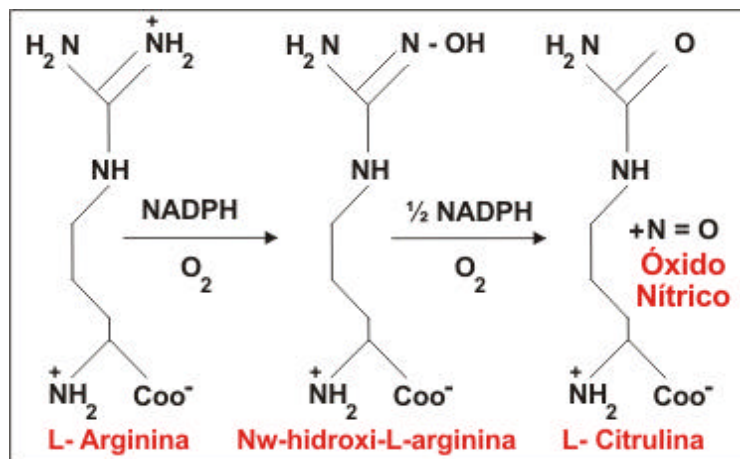


Fig. 1. Biosíntese do óxido nítrico ⁴⁹

Os compostos óxi-nitrogenados de importância biológica são encontrados em cinco estados de oxidação, representados por 13 moléculas diferentes, entre estas o próprio radical ON, a menor molécula com atividade biológica conhecida até o momento e alguns de seus metabólitos como o nitrito (NO₂-), nitrato (NO₃-) e trióxido de dinitrogênio (N₂O₃) e ácido peroxinitroso (OONOH)⁶.

O ON parece estar envolvido em inúmeros mecanismos fisiológicos vasculares, neurológicos e imunitários⁵. Deve estar relacionado com a hipotensão associado ao choque séptico, migração de neutrófilos⁵, patogênese da asma brônquica⁵⁰ e malária³.

Através da ativação da guanilciclase, o ON aumenta os níveis intracelulares de guanidina-monofosfato cíclico (GMP-cíclico), causando redução de cálcio intracelular. Tal fenômeno é responsável por relaxamento de células musculares lisas tanto no sistema vascular como em outros tecidos (músculo liso

e intestinal), inibição de aderência e agregação plaquetária e inibição da quimiotaxia de neutrófilos, além da transdução de sinais na neurotransmissão central e periférica⁵¹.

Os macrófagos ativados fundem seus lisossomos aos fagossomos de modo mais eficaz, expondo bactérias intracelulares ou recentemente ingeridas a uma variedade de enzimas lisossômicas bactericidas. Os macrófagos ativados produzem radicais de oxigênio e ON, ambos dotados de potente atividade antibacteriana, além de peptídeos anti-bacterianos⁶.

Existem evidências indiretas de aumento da sobrevivência em modelos experimentais de choque séptico com a utilização de inibidores da síntese de ON, entretanto, com aplicação que não superou a fase experimental⁴⁸.

MÉTODOS

3.1 Caracterização dos animais

Foram utilizados 24 ratos Wistar adultos, machos, procedentes do biotério de Biofísica e aclimatados no Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE). Os animais receberam água “Ad libitum” e alimentação padrão tipo Labina[®] até o início dos experimentos.

3.2 Descrição dos grupos

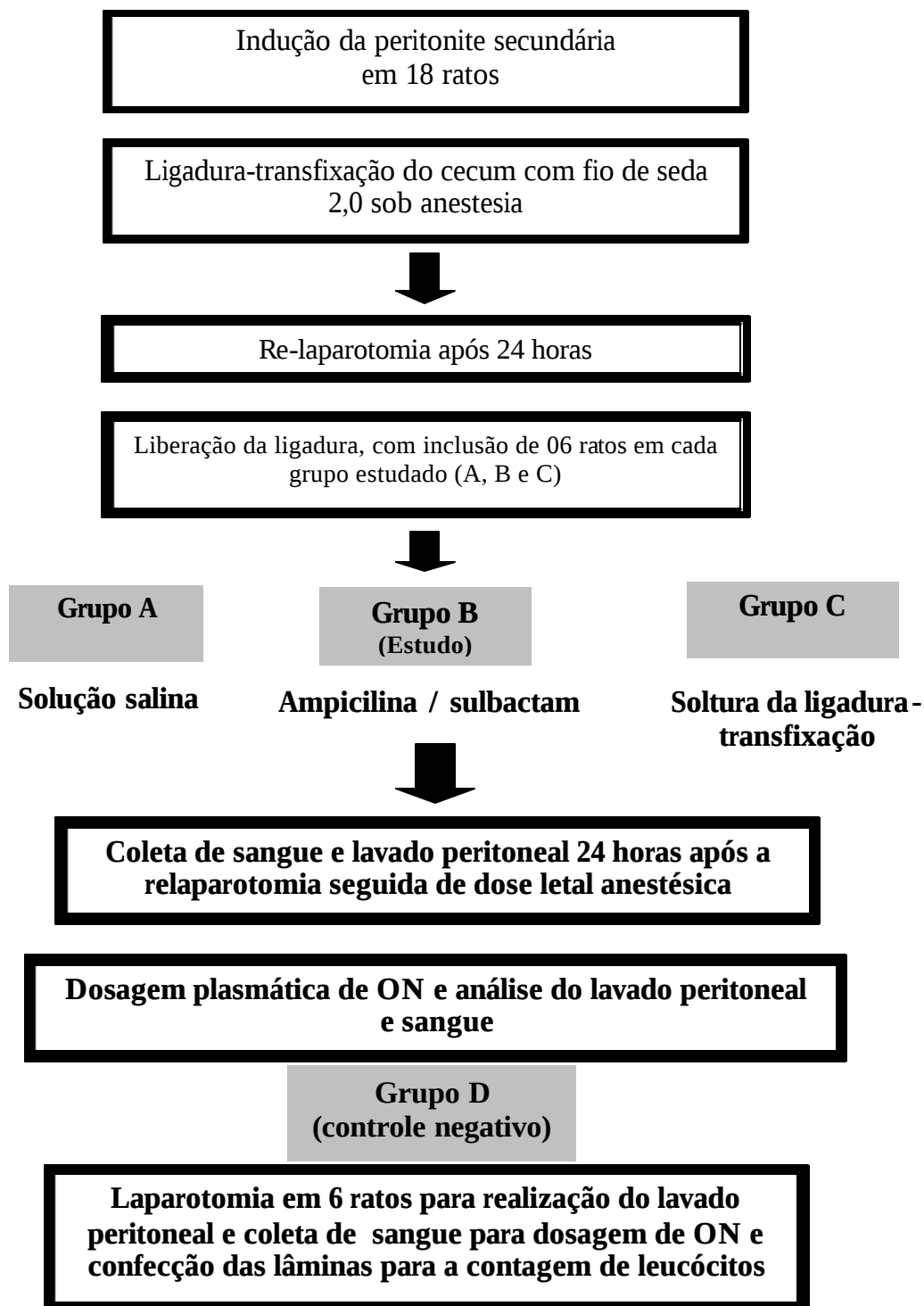
Os 24 ratos foram distribuídos em quatro grupos: nos grupos **A**, **B** e **C**: Os animais sofreram indução de peritonite pelo método de ligadura-transfixação cecal, sendo tratados após 24 horas com soltura da ligadura, seguida da distribuição nos grupos A, B e C, conforme procedimento descrito no quadro abaixo:

Quadro 1. Caracterização dos procedimentos dos grupos A, B e C

Grupos	n	Procedimento
A	06	Colocação de 8mL de soro fisiológico na cavidade
B (grupo estudo)	06	8mL de soro fisiológico com 30mg de ampicilina/sulbactam
C	06	Realizada apenas soltura da ligadura sem colocação de qualquer solução na cavidade

No grupo **D** (controle negativo): os seis ratos foram submetidos a laparotomia para realização de lavado peritoneal e coleta de sangue para dosagem de ON.

3.3 Desenho metodológico



3.4 Preparo pré-operatório

- ❖ Suspensão de dieta: imediatamente antes dos procedimentos;
- ❖ Tricotomia de parede anterior sob anestesia.

3.5 Anestesia

Utilizada a associação de dois indutores:

- ❖ Ketamina 15 mg/kg;
- ❖ Hypnomidate 0,3 mg/kg;
- ❖ Por via intra muscular.

3.6 Técnica cirúrgica

3.6.1 Indução da peritonite bacteriana

Realizada indução de peritonite secundária seguindo modificação técnica do modelo idealizado por Aguiar et al¹, sendo procedida à ligadura do cecum 0,5cm acima da válvula íleo-cecal seguida de transfixação com a própria agulha, exteriorizando o fio 3,0 cm além da parede do cecum. Síntese realizada em 2 planos de sutura contínua com Polipropileno 3,0. Fig. 2.

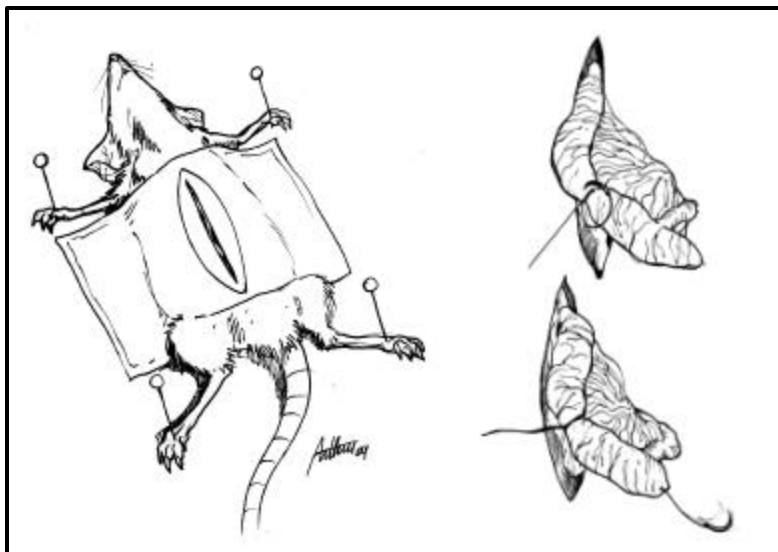


Fig. 2. Técnica de indução de peritonite secundária em ratos

Os ratos receberam rehidratação com 10ml de soro Ringer com lactato administrado por via subcutânea, seguida da aplicação de 30mg de ampicilina/sulbactam por via intramuscular (IM) nos 18 ratos.

Em caso de óbito per-operatório, o mesmo seria substituído, de acordo com o seu grupo de estudo.

3.6.2 **Re-laparotomia**

Realizada 24 horas após o procedimento inicial, sendo realizada soltura do fio de seda, com restabelecimento de trânsito intestinal. Naquele momento os 18 ratos foram divididos em três grupos:

Grupo A: lavagem com solução fisiológica 0,9 (5ml) e enxugamento com duas gazes estéreis + soro fisiológico 0,9% - 8ml;

Grupo B (estudo): lavagem com solução fisiológica 0,9 (5ml) e enxugamento com duas gazes estéreis + soro fisiológico 0,9 em mesmo volume com 30mg de ampicilina associada ao sulbactam (UNASYN – Pfizer – Brasil);

Grupo C: soltura da ligadura-transfixação, apenas;

Após re-síntese com mesma técnica e fio, ministrados 10ml subcutâneo de Ringer lactato e aplicação de 30mg IM de ampicilina/sulbactam em todos os 18 ratos.

Grupo D (controle negativo): foram utilizados seis ratos para coleta do lavado peritoneal e coleta de sangue para contagem.

3.6.3 Coleta de sangue e do lavado peritoneal

Realizada 24 horas após re-laparotomia com a finalidade de coletar material para análise através da colocação de 10mL de solução fisiológica que permaneceu 1 minuto misturada às secreções peritoneais. Sendo coletados 4mL para estudo. Foram confeccionadas lâminas a partir do lavado peritoneal para contagem total e diferencial de leucócitos (fig. 3). A amostra de sangue colhida serviu para preparação de lâminas para leucometria (fig. 4).

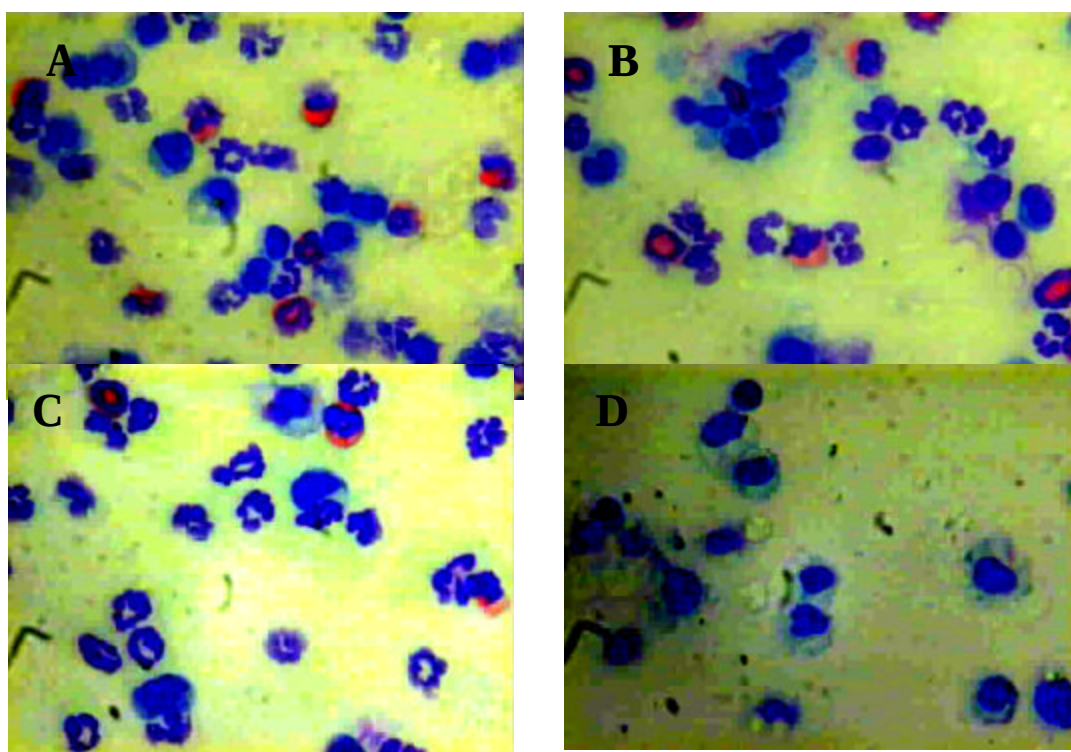


Figura 3. Lâminas do lavado peritoneal dos grupos A, B, C e D

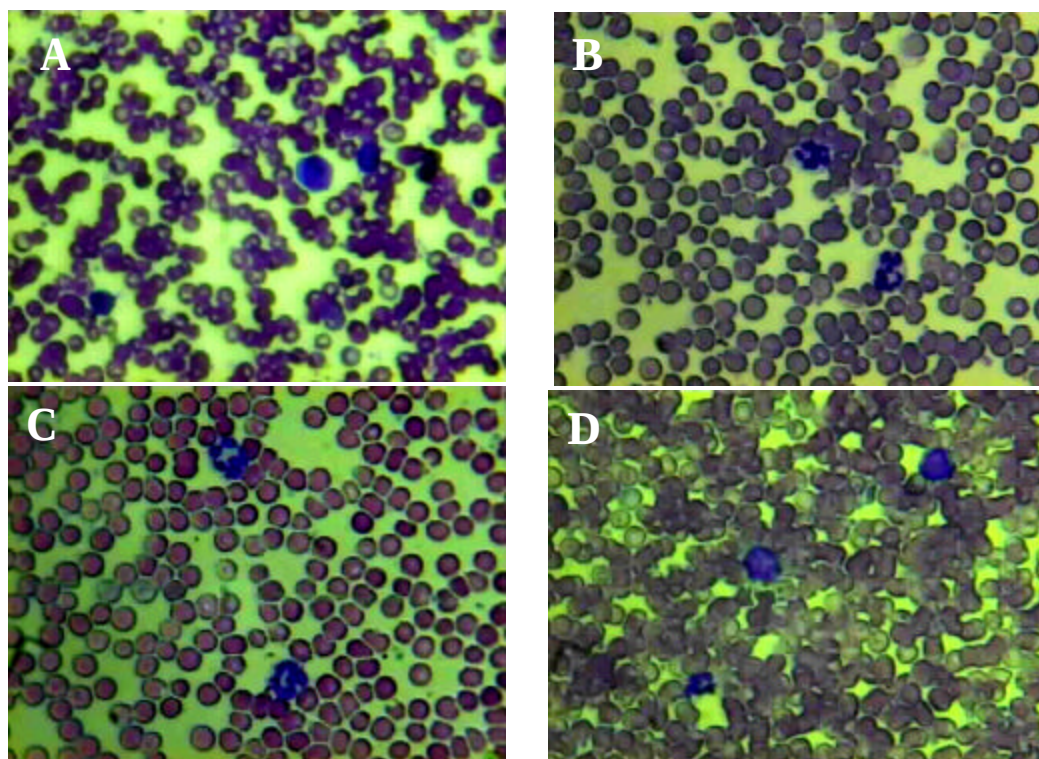


Figura 4. Lâminas do sangue dos grupos A, B, C e D

A análise do nível plasmático do ON nos 24 ratos foi obtida através de dosagem do ON a partir de 500 μ L de plasma utilizando o reagente de Griesse. Após a reação foram obtidas leituras das densidades ópticas em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 550nm. Os resultados foram representados em μ mol/L de nitrito/nitrato. Os experimentos foram realizados no setor de Microbiologia Clínica do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

3.7 Pós-operatório

Os ratos permaneceram em gaiolas individuais com fornecimento livre de água e ração, logo após recuperação anestésica.

Após finalização dos procedimentos de coleta, induzido óbito através de dose letal de ketamina. Os animais foram acondicionados em recipientes adequados, congelados e coletados pelo Serviço Municipal de Lixo de Biotério.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Núcleo de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia – CCS-UFPE, pelo pesquisador, com o auxílio de um veterinário para a condução do ato anestésico e de dois estudantes de Iniciação Científica do LIKA, observando-se as normas sobre pesquisa biomédica em animais da O.M.S⁵²..

3.8 Análise estatística

Na análise estatística foi aplicado o teste Bonferroni para comparações múltiplas. Os resultados das variáveis quantitativas foram expressos por suas médias e respectivos desvios padrão. O nível de significância estabelecido para a análise foi de 0,05.

Todos os cálculos foram realizados pelo programa SPSS versão 11.0 (*Statistical Package for Social Sciences*).

RESULTADOS

4.1 Dosagem de óxido nítrico

As médias das dosagens plasmáticas de óxido nítrico e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $19,6 \pm 9,5$; grupo B $16,7 \pm 5,1$; grupo C $13,1 \pm 7,3$ e grupo D $31,5 \pm 9,7$. Representados em nm de nitrito / nitrato (Anexo 1).

Na tabela 1, observa-se a comparação entre os grupos, revelando não ter havido diferença estatisticamente significativa nos grupos A, B, C e D , em relação a dosagem plasmática de óxido nítrico (ON) ($p > 0,05$).

TABELA 1. DOSAGEM DE ON

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	2,867	1,000	-11,347	17,080
	Controle Negativo	6,517	1,000	-7,697	20,730
	Controle Normal	-12,133	0,128	-26,347	2,080
Tratado	Não tratado	-2,867	1,000	-17,080	11,347
	Controle Negativo	3,650	1,000	-10,563	17,863
	Controle Normal	-15,000	0,035	-29,213	-0,787
Controle Negativo	Não tratado	-6,517	1,000	-20,730	7,697
	Tratado	-3,650	1,000	-17,863	10,563
	Controle Normal	-18,650	0,006	-32,863	-4,437
Controle Normal	Não tratado	12,133	0,128	-2,080	26,347
	Tratado	15,000	0,035	0,787	29,213
	Controle Negativo	18,650	0,006	4,437	32,863

Comparação Múltipla – Bonferroni

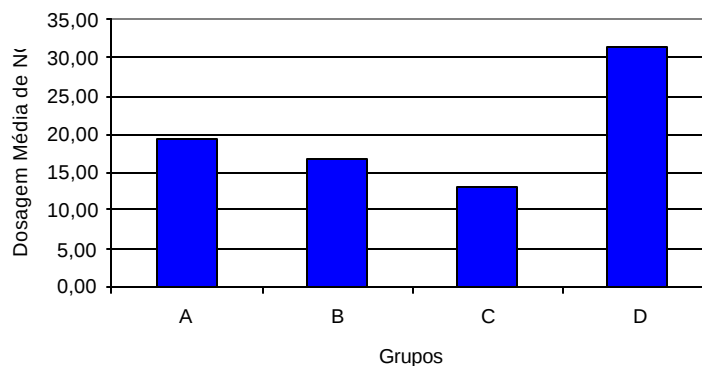


Gráfico 1. Dosagem de ON

4.2 Contagem de leucócitos no sangue (eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos)

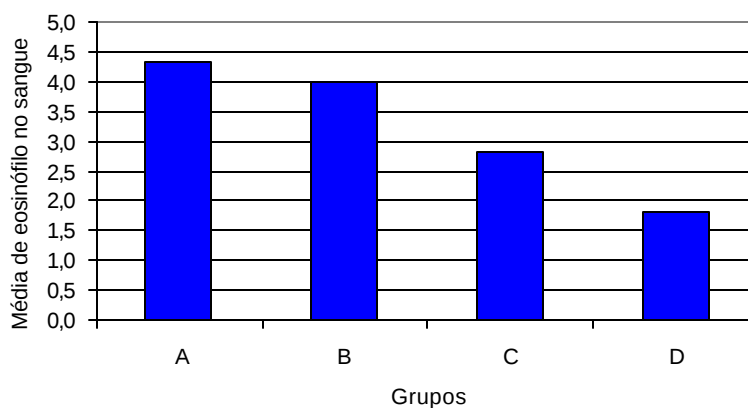
4.2.1 Eosinófilos

As médias do número de eosinófilos no sangue e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $4,3 \pm 1,8$; grupo B $4,0 \pm 1,4$; grupo C $2,8 \pm 1,2$ e grupo D $1,8 \pm 1,5$ (Anexo 2).

Tabela 2. Contagem de eosinófilos no sangue

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	0,33	1,000	-2,14	2,81
	Controle Negativo	1,50	0,550	-0,98	3,98
	Controle Normal	2,50	0,047	0,02	4,98
Tratado	Não tratado	-0,33	1,000	-2,81	2,14
	Controle Negativo	1,17	1,000	-1,31	3,64
	Controle Normal	2,17	0,112	-0,31	4,64
Controle Negativo	Não tratado	-1,50	0,550	-3,98	0,98
	Tratado	-1,17	1,000	-3,64	1,31
	Controle Normal	1,00	1,000	-1,48	3,48
Controle Normal	Não tratado	-2,50	0,047	-4,98	-0,02
	Tratado	-2,17	0,112	-4,64	0,31
	Controle Negativo	-1,00	1,000	-3,48	1,48

Comparação Múltipla – Bonferroni

**Gráfico 2.** Contagem de eosinófilos no sangue

4.2.2 Linfócitos

As médias do número de linfócitos no sangue e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $39,5 \pm 10,6$; grupo B $45,0 \pm 8,5$; grupo C $51,3 \pm 13,6$ e grupo D $69,8 \pm 8,8$ (Anexo 2).

Tabela 3. Contagem de linfócitos no sangue

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	-5,50	1,000	-23,34	12,34
	Controle Negativo	-11,83	0,399	-29,68	6,01
	Controle Normal	-30,33	0,000	-48,18	-12,49
Tratado	Não tratado	5,50	1,000	-12,34	23,34
	Controle Negativo	-6,33	1,000	-24,18	11,51
	Controle Normal	-24,83	0,004	-42,68	-6,99
Controle Negativo	Não tratado	11,83	0,399	-6,01	29,68
	Tratado	6,33	1,000	-11,51	24,18
	Controle Normal	-18,50	0,039	-36,34	-0,66
Controle Normal	Não tratado	30,33	0,000	12,49	48,18
	Tratado	24,83	0,004	6,99	42,68
	Controle Negativo	18,50	0,039	0,66	36,34

Comparação Múltipla – Bonferroni

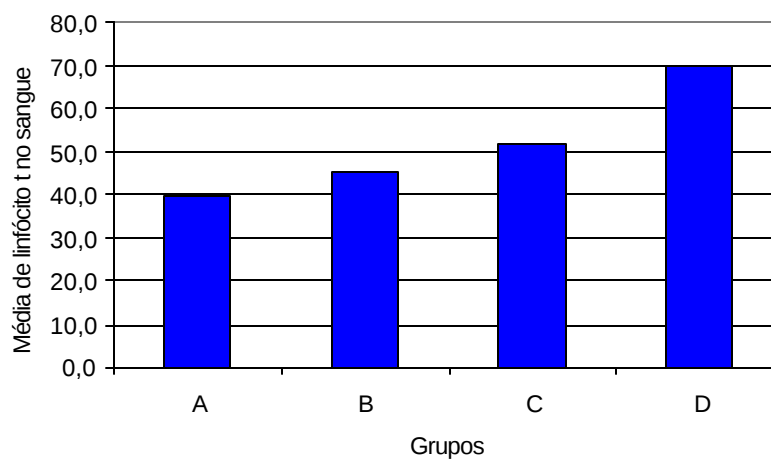


Gráfico 3. Contagem de linfócitos no sangue

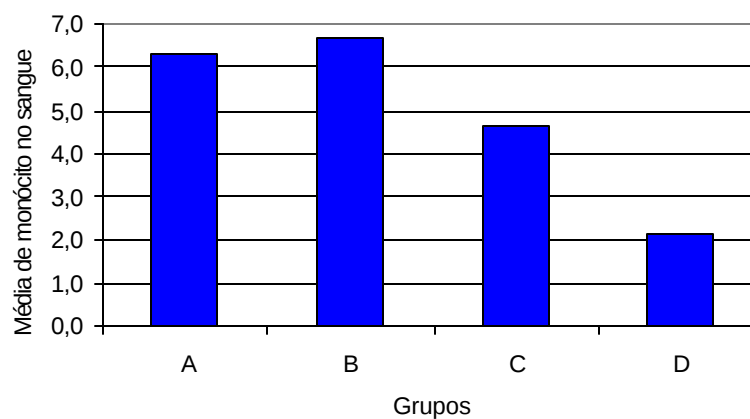
4.2.3 Monócitos

As médias do número de monócitos no sangue e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $6,3 \pm 1,9$; grupo B – $6,7 \pm 3,0$; grupo C – $4,7 \pm 1,6$ e grupo D – $2,2 \pm 2,2$ (Anexo 2).

Tabela 4. Contagem de monócitos no sangue

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	-0,33	1,000	-4,42	3,75
	Controle Negativo	1,67	1,000	-2,42	5,75
	Controle Normal	4,17	0,044	0,08	8,25
Tratado	Não tratado	0,33	1,000	-3,75	4,42
	Controle Negativo	2,00	1,000	-2,08	6,08
	Controle Normal	4,50	0,025	0,42	8,58
Controle Negativo	Não tratado	-1,67	1,000	-5,75	2,42
	Tratado	-2,00	1,000	-6,08	2,08
	Controle Normal	2,50	0,530	-1,58	6,58
Controle Normal	Não tratado	-4,17	0,044	-8,25	-0,08
	Tratado	-4,50	0,025	-8,58	-0,42
	Controle Negativo	-2,50	0,530	-6,58	1,58

Comparação Múltipla – Bonferroni

**Gráfico 4.** Contagem de monócitos no sangue

4.2.4 Neutrófilos

As médias do número de neutrófilos no sangue e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $49,7 \pm 12,1$; grupo B – $44,0 \pm 9,9$; grupo C – $41,0 \pm 12,7$ e grupo D – $25,8 \pm 6,5$ (Anexo 2).

Tabela 5. Contagem de neutrófilos no sangue

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	5,67	1,000	-12,21	23,54
	Controle Negativo	8,67	1,000	-9,21	26,54
	Controle Normal	23,83	0,005	5,96	41,71
Tratado	Não tratado	-5,67	1,000	-23,54	12,21
	Controle Negativo	3,00	1,000	-14,88	20,88
	Controle Normal	18,17	0,045	0,29	36,04
Controle Negativo	Não tratado	-8,67	1,000	-26,54	9,21
	Tratado	-3,00	1,000	-20,88	14,88
	Controle Normal	15,17	0,132	-2,71	33,04
Controle Normal	Não tratado	-23,83	0,005	-41,71	-5,96
	Tratado	-18,17	0,045	-36,04	-0,29
	Controle Negativo	-15,17	0,132	-33,04	2,71

Comparação Múltipla – Bonferroni

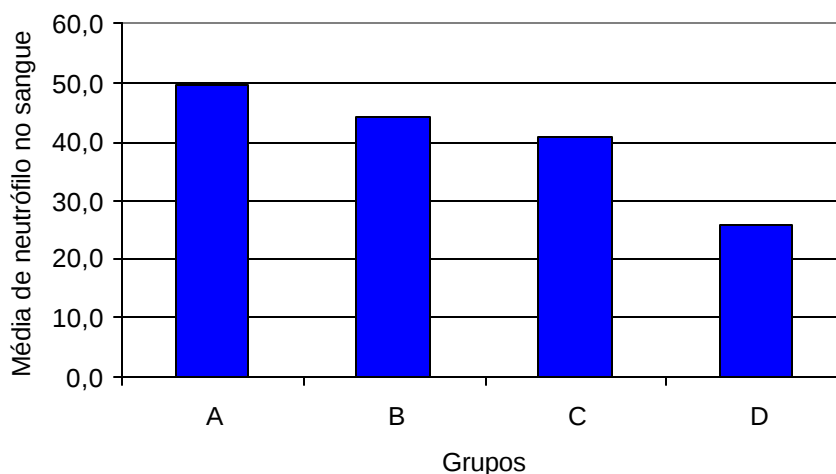


Gráfico 5. Contagem de neutrófilos no sangue

Segundo a análise estatística, utilizando o teste de Bonferroni, a contagem de: eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no sangue, comparados nos grupos A, B, C e D, observou-se que as diferenças entre eles não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$) (tabelas 2 a 5).

4.3 Contagem de leucócitos no lavado peritoneal

(eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos)

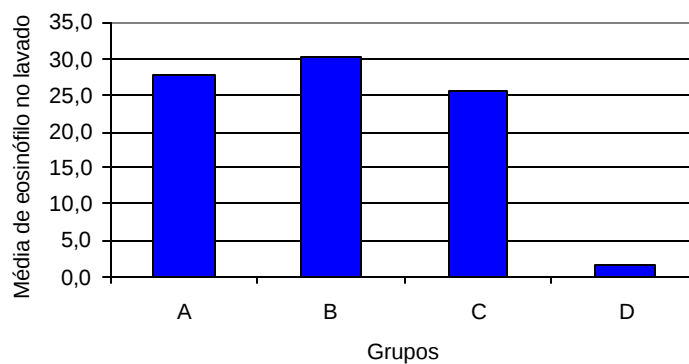
4.3.1 Eosinófilos

As médias do número de eosinófilos no lavado peritoneal e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $27,7 \pm 10,3$; grupo B – $30,2 \pm 5,7$; grupo C – $25,7 \pm 4,8$ e grupo D – $1,5 \pm 0,8$ (Anexo 3).

TABELA 6. CONTAGEM DE EOSINÓFILOS DO LAVADO

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	-2,50	1,000	-13,26	8,26
	Controle Negativo	2,00	1,000	-8,76	12,76
	Controle Normal	26,17	0,000	15,41	36,93
Tratado	Não tratado	2,50	1,000	-8,26	13,26
	Controle Negativo	4,50	1,000	-6,26	15,26
	Controle Normal	28,67	0,000	17,91	39,43
Controle Negativo	Não tratado	-2,00	1,000	-12,76	8,76
	Tratado	-4,50	1,000	-15,26	6,26
	Controle Normal	24,17	0,000	13,41	34,93
Controle Normal	Não tratado	-26,17	0,000	-36,93	-15,41
	Tratado	-28,67	0,000	-39,43	-17,91
	Controle Negativo	-24,17	0,000	-34,93	-13,41

Comparação Múltipla – Bonferroni

**Gráfico 6.** Contagem de eosinófilos do lavado

4.3.2 Linfócitos

As médias do número de linfócitos no lavado peritoneal e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $0,8 \pm 1,6$; grupo B – $0,5 \pm 0,8$; grupo C – $2,7 \pm 3,7$ e grupo D – $6,5 \pm 4,9$ (Anexo 3).

Tabela 7. Contagem de linfócitos no lavado

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	0,33	1,000	-5,08	5,75
	Controle Negativo	-1,83	1,000	-7,25	3,58
	Controle Normal	-5,67	0,037	-11,08	-0,25
Tratado	Não tratado	-0,33	1,000	-5,75	5,08
	Controle Negativo	-2,17	1,000	-7,58	3,25
	Controle Normal	-6,00	0,024	-11,41	-0,59
Controle Negativo	Não tratado	1,83	1,000	-3,58	7,25
	Tratado	2,17	1,000	-3,25	7,58
	Controle Normal	-3,83	0,308	-9,25	1,58
Controle Normal	Não tratado	5,67	0,037	0,25	11,08
	Tratado	6,00	0,024	0,59	11,41
	Controle Negativo	3,83	0,308	-1,58	9,25

Comparação Múltipla – Bonferroni

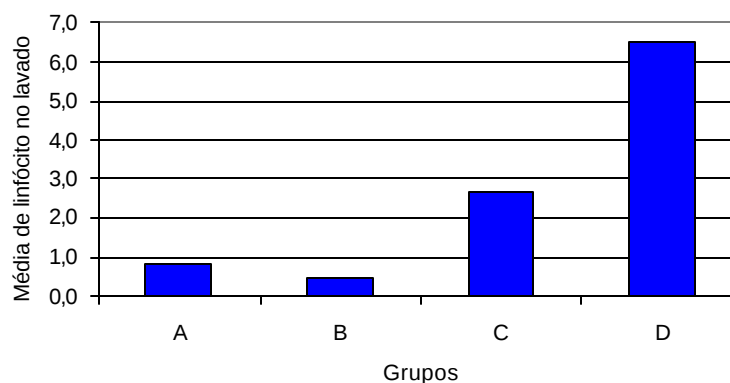


Gráfico 7. Contagem de linfócitos no lavado

4.3.3 Monócitos

As médias do número de monócitos no lavado peritoneal e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $26,3 \pm 3,4$; grupo B – $30,0 \pm 6,5$; grupo C – $30,2 \pm 11,5$ e grupo D – $92,2 \pm 5,0$ (Anexo 3).

Tabela 8. Contagem de monócitos no lavado

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	-3,67	1,000	-15,93	8,60
	Controle Negativo	-3,83	1,000	-16,10	8,43
	Controle Normal	-65,83	0,000	-78,10	-53,57
Tratado	Não tratado	3,67	1,000	-8,60	15,93
	Controle Negativo	-0,17	1,000	-12,43	12,10
	Controle Normal	-62,17	0,000	-74,43	-49,90
Controle Negativo	Não tratado	3,83	1,000	-8,43	16,10
	Tratado	0,17	1,000	-12,10	12,43
	Controle Normal	-62,00	0,000	-74,26	-49,74
Controle Normal	Não tratado	65,83	0,000	53,57	78,10
	Tratado	62,17	0,000	49,90	74,43
	Controle Negativo	62,00	0,000	49,74	74,26

Comparação Múltipla – Bonferroni

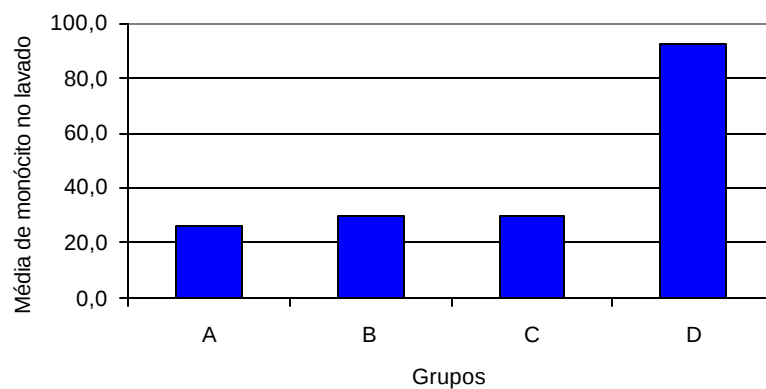


Gráfico 8. Contagem de monócitos no lavado

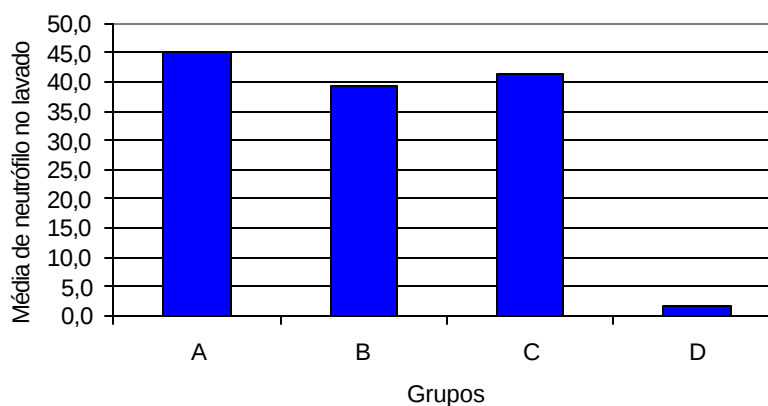
4.3.4 Neutrófilos

As médias do número de neutrófilos no lavado peritoneal e respectivos desvios-padrão foram: grupo A – $45,2 \pm 11,7$; grupo B – $39,3 \pm 8,4$; grupo C – $41,5 \pm 6,7$ e grupo D – $1,5 \pm 1,0$ (Anexo 3).

Tabela 9. Contagem de neutrófilos no lavado

		Diferença média (I-J)	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
(I)	(J)			Limite inferior	Limite superior
Não tratado	Tratado	5,83	1,000	-12,81	24,47
	Controle Negativo	3,67	1,000	-14,97	22,31
	Controle Normal	43,67	0,000	25,03	62,31
Tratado	Não tratado	-5,83	1,000	-24,47	12,81
	Controle Negativo	-2,17	1,000	-20,81	16,47
	Controle Normal	37,83	0,000	19,19	56,47
Controle Negativo	Não tratado	-3,67	1,000	-22,31	14,97
	Tratado	2,17	1,000	-16,47	20,81
	Controle Normal	40,00	0,000	21,36	58,64
Controle Normal	Não tratado	-43,67	0,000	-62,31	-25,03
	Tratado	-37,83	0,000	-56,47	-19,19
	Controle Negativo	-40,00	0,000	-58,64	-21,36

Comparação Múltipla – Bonferroni

**Gráfico 9.** Contagem de neutrófilos no lavado

Segundo a análise estatística, utilizando o teste de Bonferroni, a contagem de: eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos no lavado peritoneal, comparados nos grupos A, B, C e D, observou-se que as diferenças entre eles não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$) (tabelas 6 a 9).

DISCUSSÃO

5.1 Método

A utilização de modelos experimentais de peritonite tem importância pela dificuldade na realização de estudos clínicos que avaliem condutas terapêuticas em função de limitações éticas e da incapacidade de formação de grupos de estudo homogêneos.

Dentre os diversos modelos desenvolvidos para reproduzir as etapas encontradas na peritonite, há alguns que tendem a gerar abscessos intra-peritoneais localizados e outros processos generalizados¹.

No presente estudo, o modelo de ligadura transfixação de Aguiar et al¹, modificado por Reis²² gerou peritonite difusa em 100% dos casos.

Outros fatores importantes a serem considerados são: o índice de mortalidade e o tempo de sobrevida após instalada a peritonite e sepse a fim de otimizar a observação de determinados eventos mais tardios. O modelo de Aguiar¹ levava os animais a óbito em até 48 horas, por necrose do cecum. A modificação idealizada por Reis aumentou para mais de sete dias a sobrevida dos animais²². A referida modificação consistiu na diminuição do tempo de ligadura do cecum de 48 para 24 horas, permitindo assim a preservação da vitalidade do órgão. A ligadura passou a ser realizada acima da válvula íleo-cecal, provocando obstrução intestinal verdadeira. Os demais itens da técnica original foram mantidos.

O modelo adotado se mostrou eficaz em provocar peritonite generalizada, reconhecida pelo aspecto macroscópico à abertura da cavidade e evidenciada pela mudança no padrão leucocitário encontrado no lavado. No controle negativo é notada a predominância de linfócitos e após indução de peritonite o lavado demonstra aumento importante de neutrófilos.

Dentre os animais submetidos a esse modelo, não foi constatado óbito, fato não notado em estudo piloto prévio, talvez pela ausência da antibioticoterapia intramuscular e hidratação subcutânea. O uso do antibiótico intramuscular nos modelos de peritonite foi valorizado por Reijnen et al¹⁹, e reafirmado por Reis²². Rosman et al, enfatizaram a importância da hidratação subcutânea nesses modelos³⁴.

A escolha do antibiótico decorreu de sua atividade bactericida, da comprovada eficácia contra a flora provável presente no trato gastrintestinal e da menor capacidade indutora de β -lactamases, menor que a das cefalosporinas²². O sulbactam previne a inativação da ampicilina pelas β -lactamases bacterianas, aumentando seu espectro de ação¹¹.

A dosagem de ON foi realizada através do reativo de *griesse*, técnica clássica referida por alguns autores^{48,53}.

Estudos com ratos têm sido muito utilizado em modelos de peritonite. Os autores referem baixo custo, alta reprodutibilidade e facilidade de obtenção das cobaias^{12,54}.

5.2 Resultados

5.2.1 Mortalidade

Na avaliação da sobrevida durante o tempo decorrido do estudo não houve óbito dentre os animais. Este dado provavelmente está relacionado com adequada hidratação, antibióticos administrados, técnica cirúrgica e período de observação.

5.2.2 Dosagem plasmática de óxido nítrico (ON)

Na sepse abdominal foi encontrado um aumento dos níveis de ON por vários autores^{5,55}, bem como um aumento na sobrevida em modelos experimentais com a utilização de inibidores da síntese de ON⁴⁸.

Não houve diferença estatística entre o grupo B (estudo) e os grupos A, C e D, em relação à dosagem plasmática de ON. Evans et al., em 1993, encontraram aumento significativo nos níveis de nitrato em pacientes sépticos comparados a pacientes normais⁵⁶. Tagan et al., em 1998, relataram um valor preditivo de 100% para a origem séptica do choque quando o nível de ON foi superior a $100\mu\text{mol/L}$ ⁵⁵. Esses autores enfatizam o valor da dosagem de ON na diferenciação entre o choque séptico e cardiogênico⁵⁵. As discrepâncias entre os níveis plasmáticos de ON comparando diversos trabalhos tem razões pouco

claras, ocorrendo uma tendência a níveis muito mais baixos em modelos experimentais de peritonite que após injeção de LPS, porém semelhantes aos níveis plasmáticos em pacientes sépticos⁵.

No controle normal o nível de ON foi 31,4 μ mol/L, achado semelhante ao descrito por Tagan et al⁵⁵, os níveis de ON nos grupos A, B e C foram menores que os achados de Le Roy et al., que variaram de 50 a 150 μ mol/l, após 24 horas de infecção⁵. O uso de antibióticos parenterais e a forma de indução de peritonite podem estar relacionados com essas diferenças.

O nível de ON no grupo D (controle negativo) foi maior que nos grupos A, B e C. Talvez o momento da coleta e o uso da ampicilina/sulbactam tenham influenciado este achado. A dosagem de ON foi realizada nos grupos A, B e C após 24 horas do tratamento da infecção, como descrito por Le Roy et al⁵. Consenso Brasileiro de Seps⁵⁷ não descreve o ON como marcador específico. Tagan et al⁵⁵ referem correlação entre intensidade do quadro séptico e nível plasmático de ON.

5.2.3 Contagem de leucócitos no sangue

Quando foi comparado o número total de leucócitos no sangue, bem como, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos separadamente, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A, B e C.

Friedman et al⁵⁷ referem que a leucocitose não é marcador específico ou sensível de infecção, bem como, o valor limitado do desvio à esquerda, que reflete a formação de formas jovens pela medula óssea. Contudo, assim como mudanças na temperatura corporal, esses parâmetros são facilmente mensuráveis e continuam fundamentais na monitorização da sepse⁵⁷.

Em relação à contagem diferencial não houve diferença estatisticamente significativa considerando eosinófilos, neutrófilos, linfócitos ou monócitos. O tratamento antibiótico e o tempo de coleta após 24 horas pode não ter caracterizado estas diferenças.

5.2.4 Contagem de leucócitos no lavado peritoneal

Notada a inexistência de diferenças estatisticamente significantes, entre os grupos A, B, C e D, com uma tendência a um menor número de neutrófilos no lavado no grupo C (soltura da ligadura), que no grupo A, denotando uma migração de neutrófilos mais adequada no grupo onde houve lavagem cavitária com solução salina, em relação ao grupo onde houve apenas soltura da ligadura cecal. Torres et al., em modelo de peritonite em ratos, evidenciou diminuição da mortalidade após lavagem cavitária com solução fisiológica comparada a simples limpeza da cavidade com compressas de gases⁵⁸. A chegada dos neutrófilos ao local da inflamação/infecção (peritônio) tem importância para a defesa do

organismo pela ocorrência da fagocitose dos microorganismos, levando-os à morte por produção de várias substâncias bacteriostáticas e tóxicas⁵⁹.

5.3 Uso intraperitoneal de antibióticos

O papel dos antibióticos utilizados por via intraperitoneal continua controverso. Alguns autores defendem o seu uso por encontrarem melhor controle de aderências pós-operatórias²², redução de mortalidade^{7,8}, redução de endotoxinas e formação de abscessos³⁴. Outros autores não encontraram diferença após utilização tópica de antibióticos em relação à mortalidade²⁷ inclusive enfatizando o risco do uso em alguns pacientes³⁸.

O uso de agentes não antimicrobianos como: heparinas, dextrans, PVPI, entre outros tem resultados conflitantes além de alguns relatos de complicações relacionadas a seu uso^{22,60}.

Neste estudo, não foi encontrado diferença significativa em relação aos níveis de ON, leucometria ou migração de neutrófilos no líquido peritoneal com o uso de ampicilina/sulbactam intracavitária, ressaltando apenas uma tendência a uma maior migração de neutrófilos nos grupos submetidos à lavagem cavitária com solução fisiológica acrescida ou não do antibiótico, porém sem alcançar significação estatística.

Pelo caráter controverso do uso tópico de substâncias antimicrobianas e não-antimicrobianas para o tratamento das peritonites secundárias, torna-se clara a necessidade de estudos controlados para avaliação de seu uso.

CONCLUSÕES

Levando-se em consideração a metodologia empregada e o número de animais estudados, com base nos resultados do presente estudo, pode-se concluir, com probabilidade de acerto superior a 95%, que:

A utilização de ampicilina associada a sulbactam por via intraperitoneal em ratos com peritonite fecal:

- ◆ não modificou a sobrevivência;
- ◆ não alterou os níveis plasmáticos de óxido nítrico;
- ◆ não alterou a contagem de eosinófilos, linfócitos, monócitos e neutrófilos tanto no sangue como no lavado peritoneal.

REFERÊNCIAS

1. Aguiar JLA, Moreira IEG, Chaves MM, Lopes SL, Santana V. Peritonite experimental: Modificação técnica do modelo de ligadura do ceco em ratos. An Fac Med Univ Fed Pernamb 1996; 41: 59-62.
2. Ferraz, AAB, Ferraz EM. Sepsis Abdominal Programa de Atualização de Antibióticos em Cirurgia. 2002; 3:1-25.
3. Böhlke M. Imunossupressão induzida pela malária: existe um papel para o óxido nítrico? Rev Bras Alerg Immunopatol 1999; 22: 173-78.
4. Ferraz EM, Ferraz AAB. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica. In: Ferraz AAB, Mathias CAC, Ferraz EM. Condutas em cirurgia geral. 1ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2003; 6: 78-95.
5. Le Roy D, Heumann D, Glauser MP, Mauel J, Smith J, Corradin. Nitric oxide production in experimental gram-negative infection: studies with cytokine receptor-deficient mice. Shock 1998; 10: 37-42.
6. Janeway Jr C, Travers P, editores. Imunobiologia. O sistema imunológico na saúde e na doença. 2ª ed. São Paulo: Artes Médicas Sul Ltda. 1996.
7. Perdue PW, Kazarian KK, Nevola J, Law WR, Williams T. The use of local and systemic antibiotic in rat fecal peritonitis. J Surg Res 1994; 57: 360-65.
8. Ablan CJ, Olen RN, Dobrin PB, O'Keefe P, Tatarowicz W, Freeark RJ. Efficacy of intraperitoneal antibiotics in treatment of severe fecal peritonitis. Am J Surg 1991; 162: 453-6.

9. Vallance S, Waldron R. Antiseptic vs. saline lavage in purulent and faecal peritonitis. *J Hosp Infect* 1985; 6: 87-91.
10. Platt J, Jones RA, Bucknall RA. Intraperitoneal antiseptics in experimental bacterial peritonitis. *Br J Surg* 1984; 71:626-8.
11. Walker AP, Nichols RL, Wilson RF, Bivens BA, Trunkey DD, Edmiston Jr CE, Smith JW, Condon RE. Efficacy of a β -lactamase inhibitor combination for serious intra-abdominal infections. *Ann Surg* 1993; 217: 115-121.
12. Albuquerque PC. Infecção Peritoneal Enterocócica: Modelo Experimental em Ratos Imunossuprimidos. Tese, Mestrado, p.14, UFPE, Recife, 1991.
13. Reis TSCC. Ácido hialurônico e ampicilina associada ao sulbactam na prevenção de aderências peritoneais estudo em modelo de peritonite bacteriana em ratos. [Tese de Mestrado em Cirurgia] Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2001.
14. Browne MK, Leslie GB. Animal models of peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 143: 738-42.
15. Ferraz EM, Ferraz AAB. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica. In: Ferraz AAB, Mathias CAC, Ferraz EM. *Condutas em cirurgia geral*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2003; 59: 629-636.
16. Felac. Infecção Intrabdominal. In: _____. *Herida e infección quirúrgica*. 2001; 6: 397-416.

17. Fahel E. Peritonite secundária. In: Fahel E, Amaral P, Azaro E. Manual de Atualização em Cirurgia Geral – Diagnóstico e Tratamento. 1ª ed. Rio de Janeiro: Revinter. 2001; 12: 165-74.
18. Pagnossin G. Laparostomia na infecção intra-abdominal - Análise de 46 pacientes. [Tese de Mestrado em Cirurgia]. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1995.
19. Reijnen MMPJ, Meis JFGM, Postma VA, van Goor H. Prevention of intra-abdominal abscesses and adhesions using a hyaluronic acid solution in a rat peritonitis model. *Ar Surg* 1999; 134: 997-01.
20. Simopoulos C, Kouskoulis C, Polychronides A, Bezirtzoglou E. Effect of different combinations of antibiotics on experimental septic peritonitis in rabbits. *J Clin Lab Res* 1994; 24: 167-170.
21. Hau T, Payne WD, Simmons RL. Fibrinolytic activity of the peritoneum during experimental peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 148: 415-18.
22. Reis TC, Aguiar JLA, Lacerda CM, Brandt CT. Modelo de peritonite secundária em ratos. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 2001; 46: 115-18.
23. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980; 29: 189-201.
24. Schildt B. Experimental peritonitis in irradiated rabbits. *Acta Chir Scand* 1969; 135: 61-66.

25. Gonçalves RM, Esquerdo CRM, Petroianu A, Barbosa AJA. Influência de aderências peritoneais e fio cirúrgico na tensão de ruptura da parede abdominal em ratos. *Rev Col Bras Cirur* 2000; 27: 147-52.
26. Schein M, Saadia R, Decker G. Intraoperative peritoneal lavage. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 187-95.
27. Lally BKP, Shorr LD, Nichols RL. Aminoglycoside peritoneal lavage: lack of efficacy in experimental fecal peritonitis. *J Ped Surg* 1985; 20: 541-42.
28. Rappaport WD, Holcomb M, Valente J, Chvapil M. Antibiotic irrigation and the formation of intraabdominal adhesions. *Am J Surg* 1989; 158: 435-37.
29. Rocha JJR, Aprilli F, Santos Jr JCM, Guimarães AS. Tratamento da peritonite generalizada grave: Trabalho experimental em cobaias. *Rev Col Bras Cirur* 1986; 13: 218-23.
30. Chalkiadakis G, Kostakis A, Karayannacos PE, Giamarellou H, Dontas I, Sakellariou I, Skalkeas GD. The effects of heparin upon fibrinopurulent peritonitis in rats. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 157: 257-60.
31. Vela AR, Littleton JC, O'Leary JP. The effects of minidose heparin and low molecular weight heparin on peritonitis in the rat. *Am Surg* 1999; 5: 473-75.
32. Davidson RK, Cardenas A, Busuttil RW. The effects of heparin and low molecular weight dextran on survival after fibrinopurelent peritonitis. *Surg Gynecol Obstet*. 1981; 153: 327-31.

33. Leiboff AR, Soroff HS. The treatment of generalized peritonitis by closed postoperative peritoneal lavage: A critical review of the literature. *Arch Surg* 1987; 122: 1005-10.
34. Rosman C, Westerveld GJ, Kool K, Bleichrodt RP. Local treatment of generalised peritonitis in rats; effects on bacteria, endotoxin and mortality. *Eur J Surg* 1999; 165: 1072-79.
35. Hau T, Nishikawa R. Irrigation of the peritoneal cavity and local antibiotics in the treatment of peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 157: 25-30.
36. Schein M, Gecelter G, Freinkel W, Gerding H, Becker PJ. Peritoneal lavage in abdominal sepsis: A controlled clinical study. *Arch Surg* 1990; 125: 1132-35.
37. Atkins RC, Scott DF, Holdsworth SR, Davidson AJ. Prolonged antibiotic peritoneal lavage in the management of gross generalized peritonitis. *Med J Aust* 1976; 1: 954-56.
38. Ericsson CD, Duke JH, Pickering LK. Clinical pharmacology of intravenous and intraperitoneal aminoglycoside antibiotics in the prevention of wound infections. *Ann Surg* 1978; 188: 66-70.
39. Lally KP, Trettin JC, Torma MJ. Adjunctive antibiotic lavage in experimental peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 157: 605-8.

40. Salvati EP, Rubin RJ, Eisenstat TE, Bohman H. Value of subcutaneous and intraperitoneal antibiotics in reducing infection in clean contaminated operations of the colon. *Surg Gynecol Obstetr* 1988; 167: 315-18.
41. Edmiston Jr. C, Goheen MP, Kornhall S, Jones FE, Condon RE. Fecal peritonitis: Microbial adherence to serosal mesothelium and resistance to peritoneal lavage. *World J Surg* 1990; 14: 176-83.
42. Ahrenholz DH, Simmons R. Povidone-Iodine in peritonitis. *J Surg Res* 1979; 26: 458-63.
43. Vallance S, Waldron R. Antiseptic vs. saline lavage in purulent and faecal peritonitis. *J Hosp Infect* 1985; 6: 87-91.
44. Bondar VM, Rago CBS, Cottone JF, Wilkerson DK, Riggs J. Chlorhexidine lavage in the treatment of experimental intra-abdominal infection. *Arch Surg* 2000; 135: 309-14.
45. Velho AV, Peritonites: papel das células mesoteliais e suas implicações na terapêutica. *Rev AMRIGS* 1991; 35: 157-60.
46. Vela AR, Littleton JC, O'leary JP. The effects of minidose heparin and low molecular weight heparin on peritonitis in the rat. *Am Surg* 1999; 5: 473-477.
47. Lemos FN. Infecção em cirurgia: Biologia da infecção. In: Ferraz AAB, Lima FEBA, Lima EMC, Lima MA, Bacelar LS, Aguiar JLA, Ferreira Filho HA,

- Ferraz EM. Bases da técnica cirúrgica e da anestesia. 1ª ed. Recife: Editora Universitária 2001; 47: 247-281.
48. Arzate-Villafaña JA, López CV. Inhibición de la síntese del óxido nítrico. Papel en la sobrevivencia y hemodinamia de un modelo experimental de peritonitis fecal. Rev Sanid Milit Mex 1998; 52: 257-63.
49. Flora Filho R., Zilbershtein B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. Rev. Assoc. Med. Bras. 2000; 46: 1-8.
50. Teles Filho PA. Asma brônquica: Resposta tardia da asma. [serial online] 2004. Disponível em URL: <http://www.asma-bronquica.com.br>.
51. Cerqueira NF, Yoshida WB. Óxido nítrico. Acta Cir Bras [serial online] 2002 Nov-Dez;17. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.
52. Howard-Jones N. A CIOMS ethical code for animal experimentation. WHO Chronicle, 1985; 39: 51-6.
53. Yang CW, Hwang TL, Wu CH, Lai PC, Huang JY, Yu CC, Shyr MH, Huang CC. Peritoneal nitric oxide is a marker of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. Nephrol Dial Transplant. 1996; 11:2466-71.
54. Carvalho GL. Choque endotoxêmico em coelhos: Importância da interleucina-8. [Tese de Mestrado em Cirurgia] Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 1996.

55. Tagan D, Eckert P, Markert M, Feihl F, Schaller MD. Blood nitrate levels in septic and cardiogenic shock. Clin Int Care 1998; 9: 71-76.
56. Evans T, Carpenter A, Kinderman H, Cohen J. Evidence of increased nitric oxide production in patients with the sepsis syndrome. Circ Shock 1993; 41: 77-81.
57. Friedman G, Lobo S, Rigato O. Consenso Brasileiro de Seps. Diagnóstico, monitorização da resposta inflamatória.
58. Torres OJM, Macedo EL, Melo TCM, Costa JVG, Nunes PMS, Viana RMM, Dietz UA. Fecal peritonitis in rats: efficacy of the peritoneal lavage with saline solution. Acta Cir Bras [serial online] 1999 Apr Jun; 14(2). Available from: URL: <http://www.scielo.br/acb>.
59. Silva WTF. Aspectos da resposta inflamatória em ratos adultos endotoxêmicos submetidos à desnutrição no período de aleitamento. [Tese de Mestrado em Nutrição]. Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2002.
60. Sun Y, Williams CH, Hardaway RM, Shen J. The effect of heparinization on intra-abdominal infection and acute pulmonary failure. Int Surg 1997; 82: 367-70.

NORMAS CONSULTADAS

Esta dissertação seguiu as normas estabelecidas pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas, que são denominadas Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomed Journals, e conhecidas como o estilo de Vancouver. Atualmente, mais de 500 periódicos em todo o mundo seguem essas normas, podendo ser localizado na Internet no endereço: <http://www.cma.ca/publications/mwc/uniform.htm>

ANEXOS

Anexo 1*Dosagem de ON*

	N	Mínimo	Maximo	Média	Desvio Padrão
Grupo A	6	7,9	31,7	19,583	9,4730
Grupo B	6	8,9	23,3	16,717	5,1254
Grupo C	6	6,6	27,5	13,067	7,3489
Grupo D	7	21	46	31,54	9,712

Anexo 2

LEITURA DAS LÂMINAS D O SANGUE – RESUMO ESTATÍSTICO

	N	Mínimo	Maximo	Média	Desvio Padrão
Grupo A					
Basófilo	6	0	0	0,00	0,000
Eosófilo	6	3	7	4,33	1,751
Linfócito	6	0	0	0,00	0,000
Linfócito t	6	27	56	39,50	10,635
Monócito	6	4	8	6,33	1,862
Neutrófilo	6	29	63	49,67	12,111
Grupo B					
Basófilo	6	0	0	0,00	0,000
Eosófilo	6	2	6	4,00	1,414
Linfócito	6	0	0	0,00	0,000
Linfócito t	6	29	53	45,00	8,485
Monócito	6	2	10	6,67	3,077
Neutrófilo	6	35	62	44,00	9,879
Grupo C					
Basófilo	6	0	0	0,00	0,000
Eosófilo	6	1	4	2,83	1,169
Linfócito	6	0	0	0,00	0,000
Linfócito t	6	25	61	51,33	13,574
Monócito	6	3	7	4,67	1,633
Neutrófilo	6	31	66	41,00	12,696
Grupo D					
Basófilo	6	0	1	0,33	0,516
Eosófilo	6	0	4	1,83	1,472
Linfócito	6	0	0	0,00	0,000
Linfócito t	6	57	82	69,83	8,750
Monócito	6	0	7	2,17	2,787
Neutrófilo	6	17	37	25,83	6,494

Anexo 3

LEITURA DAS LÂMINAS DO LAVADO – RESUMO ESTATÍSTICO

	N	Mínimo	Maximo	Média	Desvio Padrão
Grupo A					
Linfócito	6	0	4	0,83	1,602
Monócito	6	21	30	26,33	3,386
Neutrófilo	6	35	68	45,17	11,703
Eosófilo	6	8	38	27,67	10,289
Grupo B					
Eosófilo	6	23	38	30,17	5,707
Linfócito	6	0	2	0,50	0,837
Monócito	6	21	36	30,00	6,450
Neutrófilo	6	24	47	39,33	8,383
Grupo C					
Eosófilo	6	17	31	25,67	4,803
Linfócito	6	0	9	2,67	3,670
Monócito	6	21	50	30,17	11,496
Neutrófilo	6	14	62	41,50	16,682
Grupo D					
Eosófilo	6	1	3	1,50	0,837
Linfócito	6	0	14	6,50	4,930
Monócito	6	83	98	92,17	5,037
Neutrófilo	6	0	3	1,50	1,049