

# Análise Comparativa da Evolução da Peritonite Induzida por Inóculo Padronizado de *Escherichia coli* em Ratos – Controles, Laparotomia e Pneumoperitônio com Dióxido de Carbono \*

## *Comparative Analysis of the Evolution of the Induced Peritonitis by an Standardized Inoculum of *Escherichia coli* in Rats - Controls, Laparotomy and Pneumoperitonium with Carbon Dioxide*

Albino Augusto Sorbello <sup>1</sup>, Suely Blanes Damy <sup>2</sup>, Junko Takano Osaka <sup>3</sup>, Renato Andretto <sup>4</sup>, Luis Cláudio Mattosinho-França <sup>5</sup>, Arnaldo Zanotto <sup>6</sup>, Erasmo Magalhães de Castro Tolosa <sup>7</sup>

Trabalho realizado no Deptº de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil.

### RESUMO

**OBJETIVO:** O emprego da vídeo-cirurgia realizando o pneumoperitônio com o gás dióxido de carbono tem sido incrementado nos últimos dez anos, para o tratamento de doenças abdominais. Alguns autores têm desaconselhado seu emprego nos casos mais complicados de infecção, alegando piora da evolução pós-operatória, enquanto a maioria que a pratica não tem tido esta experiência. O gás carbônico tem sido empregado desde 1920 na indústria de alimentos como agente antimicrobiano. Foi objetivo, saber se este fato poderia ser comprovado, comparando o pneumoperitônio com gás dióxido de carbono e a laparotomia. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi desenvolvido um modelo de peritonite em ratos Fischer 344 usando como inóculo uma dose letal 50 contendo 2 ml de solução com  $6 \times 10^5$  UFC/ml de *Escherichia coli* e 1 ml de sulfato de bário a 10%. Os ratos foram divididos por sorteio em quatro grupos: controle dos ratos (CSF N=15), injetados com 3 ml de solução fisiológica estéril; controle do inóculo bacteriano (CIB N=10), inoculados com uma dose letal 50; inóculo bacteriano e laparotomia (IBL N=17); e inóculo bacteriano e pneumoperitônio (IBP N=16). Avaliamos a sobrevivência e as alterações histopatológicas (músculos da parede abdominal, baço, fígado, intestinos e mesos) classificando-as em: Preservado; Inflamação Aguda e Fenômeno Regenerativo. **RESULTADOS:** Só na

Inflamação Aguda ocorreu diferença estatística significativa na análise de variância segundo dois critérios de classificação ( $p < 0.05$ ) que complementada pelo teste “post hoc” de Student-Newman-Keuls correspondeu aos pares CSF vs CIB e CSF vs IBL. **CONCLUSÕES:** Os autores concluem existir uma possível ação protetora proporcionada pelo gás dióxido de carbono aos animais estudados.

**Unitermos:** PNEUMOPERITÔNIO/mortalidade. DIÓXIDO DE CARBONO. ESTUDO COMPARATIVO. LAPAROTOMIA/mortalidade. LAPAROSCOPIA/mortalidade. PERITONITE/cirurgia. ESCHERICHIA COLI/patogenicidade. RATOS ISOGÂMICOS F344.

SORBELLO AA, DAMY SB, OSAKA JT, ANDRETTO R, MATTOSINHO-FRANÇA LC, ZANOTTO A, TOLOSA EMC - Análise Comparativa da Evolução da Peritonite Induzida por Inóculo Padronizado de *Escherichia coli* em Ratos – Controles, Laparotomia e Pneumoperitônio com Dióxido de Carbono. Rev. bras. video-cir 2003; 1(1): 1-8.

O emprego da vídeo-cirurgia realizando o pneumoperitônio com o gás dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) têm sido incrementado nos últimos 10 anos para o tratamento de doenças infecciosas complicadas das estruturas anatômicas contidas na cavidade peritoneal.

Os sucessos obtidos nas urgências com o emprego desta técnica terapêutica têm sido constatados em diferentes tipos de eventualidade, tais como relatado nas urgências abdominais de modo geral<sup>16,30,34,36,43</sup>. Com alta taxa de acerto no diagnóstico e baixa morbidade na sua aplicação terapêutica.

Enviado em 28 de fevereiro de 2003

Aceito para publicação em 6 de março de 2003

\* Artigo baseado na tese de doutorado: Análise comparativa da evolução da peritonite induzida por inóculo padronizado de *Escherichia coli* em ratos: controles, laparotomia e pneumoperitônio com dióxido de carbono. Faculdade de Medicina da USP, 2001.

Tal fato não foi verificado nas conclusões apresentadas por outros autores<sup>7,44</sup> ao estudarem diferentes tipos de peritonite purulenta, afirmaram ser a laparotomia a forma ideal de tratamento e contra-indicam a técnica laparoscópica. Segundo estes autores<sup>7,44</sup>, o aumento da pressão intra-peritoneal produzido pelo pneumoperitônio teoricamente potencializaria o desenvolvimento de choque séptico. Desde 1993 temos observado boa evolução clínica nos doentes por nós tratados por vídeo-laparoscopia com o emprego de CO<sub>2</sub> para a realização do pneumoperitônio.

Frente a estas observações nos doentes, iniciou-se a investigação experimental para análise dos efeitos do pneumoperitônio com CO<sub>2</sub>, em animais com peritonites purulentas (PP) bacterianas induzidas, tentando elucidar os riscos ou benefícios do seu emprego<sup>2,4,10,11,15,20,22-25,32,34,35,39,41</sup>. Com intuito de buscarmos esclarecimentos nesta área, propusemo-nos a desenvolver este estudo.

## MATERIALE MÉTODOS

Utilizamos 89 ratos albinos isogênicos convencionais, machos, adultos, de 100 a 150 g, da linhagem Fischer 344, provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Acomodados em gaiolas de polipropileno, foram mantidos em temperatura controlada de 22°C (+ ou - 2°C) e ciclo de luz de 12 horas. Ração peletizada, com formulação própria para a espécie (Nuvital Nutrimentos) e água foram fornecidas *ad libitum*.

*Escherichia coli* (*E. coli*), cepa American Type Culture Collection (ATCC) 11775, sorotipo H7:O1:K1<sup>26,29,38</sup>, obtida no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Capital (BR). A bactéria foi cultivada em ágar cérebro-coração (Difco Laboratories, Detroit, Michigan - USA). O ajuste da concentração foi feito comparando-o com a Escala de MacFarland<sup>8</sup>. O controle das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi realizado pela semeadura em ágar MacConkey (Difco Laboratories, Detroit, Michigan - USA), fazendo-se a leitura após 18-24 horas de inoculação a 37°C.

Os animais foram submetidos à punção percutânea de solução fisiológica a 0,9% (SF) ou do inóculo bacteriano (IB), no quadrante ventral caudal direito do abdome. Completada a injeção, os animais foram recolocados em suas acomodações e mantidos com alimentação e água *ad libitum*.

Para a DL<sub>50</sub> como inóculo, utilizou-se 2 ml de quatro diferentes suspensões de *E. coli*, acrescentando-se 1 ml de sulfato de bário a 10%, totalizando os 3 ml, separadamente por grupo de oito animais<sup>37</sup>. Empregamos como anestésico uma mistura de 90% da droga cloridrato de cetamina (Ketalar - Laboratório Parke-Davis) e 10% de cloridrato de 2 - (2.6 - xilidino) - 5.6 dihidro - 4H - 1.3 - tiazina (Rompun - Laboratório Bayer), na dose de 1 ml por quilo de peso do animal. Injetados por via intramuscular no membro posterior (músculo quadríceps femoral - *m. quadríceps femoris*).

O estudo foi desenvolvido dividindo-se os ratos por sorteio em quatro grupos de animais:

- *Grupo Controle* (dos ratos), injetados com 3 ml de Solução Fisiológica estéril (CSF 15 ratos), no dia 0 (zero);

- *Grupo Controle do Inóculo Bacteriano* (CIB - 10 ratos), no dia 0 (zero) foram inoculados com 3ml do IB (DL<sub>50</sub> = 2 ml de solução contendo 6 x 10<sup>-5</sup> UFC/ml de *E. coli* e 1 ml de sulfato de bário a 10%);

- *Grupo do Inóculo Bacteriano e Laparotomia* (IBL - 17 ratos) inoculados no dia zero com uma única DL<sub>50</sub>. No dia um, após terem recebido a anestesia geral, os animais separadamente foram submetidos a laparotomia por incisão longitudinal (3 cm), trans-muscular no quadrante caudal direito. Mantivemos exposta a cavidade abdominal por 15 minutos. Ao término efetuamos a síntese com sutura contínua em dois planos.

- *Grupo do Inóculo Bacteriano e Pneumoperitônio com Dióxido de Carbono* (IBP - 16 ratos), inoculados com uma única DL<sub>50</sub>, no dia zero. No dia um, foram submetidos à anestesia geral e efetuamos pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> por punção com agulha de Verres ao nível da cicatriz umbilical<sup>40</sup>. Para manutenção do pneumoperitônio empregamos um insuflador eletrônico (Endoview - V. Müller), que garantia uma pressão constante intra-peritoneal de 12 mmHg. O tempo de manutenção do pneumoperitônio correspondeu a dois períodos de sete minutos, intercalados por intervalo de um minuto.

A ocorrência de óbitos foi avaliada nos quatro grupos (CSF; CIB; IBL; IBP) durante os oito dias e os resultados corresponderam ao registro da distribuição do Percentual de Sobrevivência.

Todos os ratos sobreviventes no oitavo dia foram submetidos à eutanásia em câmara de éter. Todos os ratos foram necropsiados. As peças foram fi-

xadas em formaldeído a 10%, incluídas em parafina, cortadas por micrótomo com 5 (cinco) micra de espessura e fixadas em lâminas de microscopia óptica comum. Utilizamos a técnica de coloração com hematoxilina-eosina.

Os dados do presente trabalho foram analisados mediante um nível de significância de 5% ( $p = 0,05$ ). Os cálculos foram executados com auxílio do programa STATISTICA (STATSOFT INC. - 1995). Foram utilizados os seguintes modelos:

- Diferença entre percentuais;
- Análise de variância para dois critérios de classificação (linhas vs colunas);
- Teste “post-hoc” de comparação múltipla de Student-Newman-Keuls (SNK) entre os diversos pares de grupos<sup>3,13,18</sup>.

## RESULTADOS

Os animais do grupo CSF não apresentaram nenhum sinal clínico de infecção ou sepsis. Todos os componentes dos outros três grupos apresentaram, decorridas oito horas após a inoculação por *E. coli*, e de maneira semelhante, os sinais clínicos de desidratação e/ou sepsis, a saber: piloereção; coriza purulenta; diminuição das atividades físicas (motoras); e hiperpnéia. Estes sinais desapareceram a partir do quarto dia em todos os sobreviventes.

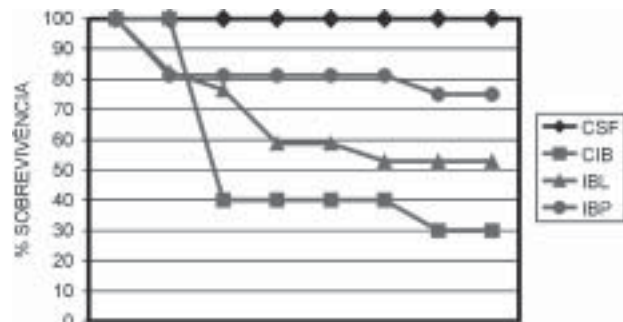
No grupo do CSF não ocorreram mortes e houve uma distribuição progressiva das mortes entre os demais grupos (CIB > IBL > IBP), Tabela 1 e na Figura 1.

**Tabela 1**

*Percentual de Sobrevivência nos quatro grupos na seqüência dos oito dias do experimento*

Dias \ Grupos (%)	CSF	CIB	IBL	IBP
0	100	100	100	100
1	100	100	82.35	81.25
2	100	40	76.47	81.25
3	100	40	58.82	81.25
4	100	40	58.82	81.25
5	100	40	52.94	81.25
6	100	30	52.94	75
7	100	30	52.94	75

**Figura 1**  
*Linhas representativas do Percentual de Sobrevivência nos quatro grupos na seqüência dos oito dias do experimento*



A classificação por nós aplicada neste estudo foi: Preservado; Inflamação Aguda e Fenômeno Regenerativo. As alterações que caracterizaram cada um destes estágios foram encontradas isoladas ou em associação, pois, o critério de inclusão, foi a constatação de pelo menos uma delas no material estudado. Efetuamos a apresentação percentual, individualizada de cada estrutura anatômica estudada (músculos da parede abdominal; baço; fígado; intestino delgado; ceco; e mesos) dispostos em linhas e, sua avaliação histopatológica, nos quatro diferentes grupos, alinhados em colunas.

À semelhança do Percentual de Sobrevivência e das Alterações Clínicas, observamos ao Exame Histopatológico uma evolução bifásica caracterizada pela presença de importantes alterações, decorrentes da Inflamação Aguda, nos animais que morreram até o quinto dia e de Fenômenos Regenerativos nos sobreviventes, que foram submetidos à eutanásia no oitavo dia. Em alguns destes últimos não se conseguiu constatar qualquer alteração histopatológica e constituíram parte do grupo de Preservados. Todos os exames histopatológicos que não apresentaram alterações foram usados como padrão de normalidade para estes animais e denominados Preservados (Tabela 2).

A Inflamação Aguda correspondeu ao achado mais evidente nos animais que morreram durante os oito dias após terem recebido o IB (CIB; IBL; IBP) (Tabela 3).

Nos músculos da parede abdominal observamos: abscesso; flegmão; colônias bacterianas; periarterite; necrose muscular. Esplenite aguda com

**Tabela 2**  
*Percentual de cada uma das estruturas Preservadas nos quatro grupos*

<b>Estrutura Preservada \ Grupo (%)</b>	<b>CSF</b>	<b>CIB</b>	<b>IBL</b>	<b>IBP</b>
Músculos da Parede Abdominal	100	66.7	31.3	92.3
Baço	92.8	87.5	73.3	93.3
Fígado	33.3	14.3	18.7	0
Intestinos	100	25	50	93.7
Mesos	85.7	50	10	0

**Tabela 3**  
*Percentual de cada uma das estruturas com Inflamação Aguda nos quatro grupos*

<b>Estrut. Inflamação Aguda \ Grupo (%)</b>	<b>CSF</b>	<b>CIB</b>	<b>IBL</b>	<b>IBP</b>
Músculos da Parede Abdominal	0	22.2	18.7	7.7
Baço	7.2	12.5	26.7	6.7
Fígado	60	85.7	81.3	93.7
Intestinos	0	75	47.1	6.3
Mesos	0	50	50	28.6

aumento de tamanho dos folículos; neutrófilos (fenômenos exsudativo); tumefação de células reticulares; cápsula com neutrófilos (peritonite fibrinopurulenta). Hepatite aguda com: necrose centro lobular; veias centro lobulares circundadas por neutrófilos; focos de necrose celular; contração celular; células com núcleos contraídos; microvacuolização citoplasmática (esteatose microgoticular).

Nos intestinos, a serosa continha neutrófilos e peritônio tumefeito (peritonite aguda); a parede teve necrose com destruição da mucosa caracterizando desarranjo da arquitetura glandular observado pela presença de: glândulas necróticas, focos de necrose supurativa da mucosa, ausência de células glandulares no revestimento epitelial mucoso (ausência de mucosa); úlceras agudas de mucosa; e colonização bacteriana na luz. Nos mesos, observamos sinais evidentes de peritonite aguda: tumefação de células mesoteliais; presença de neutrófilos; vasculite aguda com presença de bactérias; exsudato com fibrina e neutrófilos; e necrose com fibrina e bactérias.

Nos músculos da parede abdominal constatamos: tecido de reparação ou granulação com presença de histiócitos; fibrose aprisionando fibras dos músculos estriados; granuloma de corpo estranho e restos de fios de sutura. Fígado com: pleomorfismo dos

núcleos por estarem em divisão, basofilia citoplasmática (aspecto tigróide) devido à evidência das mitocôndrias; hiperplasia retículo endotelial (células de Kupffer). Mesos com infiltrado mononuclear (mastócitos); dilatação vascular.

### TESTES ESTATÍSTICOS

No final do experimento observamos que o Percentual de Sobrevivência apresentava diferenças estatísticas significantes entre quatro dos seis pares estudados. Não houve diferenças estatísticas significantes só entre os dois pares: CIB vs IBL e IBL vs IBP (Tabela 5).

A análise de variância segundo dois critérios de classificação da avaliação histopatológica das estruturas anatômicas estudadas demonstrou diferença significativa só nos casos de classificação Inflamação Aguda (Tabela 3). Complementada com a realização do teste “post-hoc” de SNK, para comparação múltipla entre os quatro grupos, aos pares, perfazendo seis combinações, permitiu identificar que os pares CSF vs CIB e CSF vs IBL, foram os que contribuíram para que esta diferença fosse significativa na Análise de Variância. É interessante observar que não houve diferença significativa entre o par CSF vs IBP.

**Tabela 4**  
*Percentual de cada uma das estruturas com Fenômeno Regenerativo nos quatro grupos*

<b>Estrut. Fenômeno Regenerativo \ Grupo (%)</b>	<b>CSF</b>	<b>CIB</b>	<b>IBL</b>	<b>IBP</b>
Músculos da Parede Abdominal	0	11.1	50	0
Baço	0	0	0	0
Fígado	0	0	0	6.3
Intestinos	0	0	0	0
Mesos	14.3	0	40	71.4

## DISCUSSÃO

Com observação das principais alterações clínicas pudemos constatar a eficiência do inóculo bacteriano, pois todos os animais inoculados com a DL<sub>50</sub> desenvolveram as manifestações de sepsis ou de desidratação. Este fato não foi verificado em nenhum dos ratos injetados com a solução fisiológica estéril (CSF). Nos evidenciou o aspecto bifásico de evolução destes animais frente a este tipo de peritonite. Uma fase aguda, com alterações clínicas evidentes e índices significativos de mortes, que se iniciou ao redor de 12 h após ter recebido a inoculação e, terminou por volta do terceiro dia, com o desaparecimento dos sinais clínicos e redução expressiva das mortes. Estes fatos caracterizaram a fase seguinte (regenerativa) que perdurou até o oitavo dia, por ocasião de término do experimento<sup>1,12,19,22,23,39,42</sup>.

Os achados dos percentuais de sobrevida (Tabelas 1 e Figura 1) evidenciaram que houve uma diferença evolutiva da peritonite em relação ao percentual de sobrevivência entre IBP vs CIB, que não foi verificada entre o CIB vs IBL<sup>4,24,25</sup>.

É importante salientar que a constatação de percentuais de Preservado nos três grupos de animais inoculados (CIB, IBL, e IBP), reforça o aspecto bifásico da evolução dos ratos a peritonite induzida. Esta característica bifásica, por nós observada foi constatada e comentada por ocasião em que analisamos os principais sinais clínicos e os percentuais de sobrevivência e terminou ficando reforçada pelos achados histopatológicos<sup>1,5,22,42,45</sup>.

Os determinantes histopatológicos de Inflamação Aguda corresponderam ao achado mais evidente nos animais que morreram durante os oito dias do experimento, após terem recebido o IB.

Na Tabela 3, pode ser observado que o maior índice percentual de Inflamação Aguda nos músculos

da parede abdominal correspondeu ao grupo CIB (não operado) e não ao IBL (operado) e por último ao IBP (não operado). Em algumas lâminas avaliadas pela microscopia óptica pudemos perceber um aspecto evolutivo da infecção aguda da parede abdominal do tipo migratório, ou seja, oriundo do peritônio parietal, em direção a musculatura, corroborando os valores percentuais documentados. Para JACOBI e cols.<sup>24</sup>, a laparotomia provocou um maior número estatisticamente significativa, de translocação bacteriana, de endotoxemia e da quantidade de abscessos do que o pneumoperitônio e os controles. Atribuíram que este fenômeno era decorrente das lesões vasculares inferidas pela secção da parede abdominal na laparotomia, as quais predispunham ao aumento da translocação bacteriana. Estas observações entram em conflito com os nossos resultados que conferiram o maior índice de fleimão ao grupo CIB que não teve agressão da parede abdominal.

As alterações agudas marcantes verificadas nos intestinos (íleo terminal e ceco) em parte dos ratos inoculados nos despertaram a atenção, em virtude de serem de relevante gravidade. Além da presença de peritonite aguda visualizada na serosa, o que mais impressionou foi o grau de necrose da parede com destruição da mucosa, caracterizada pelo desarranjo da arquitetura glandular, chegando mesmo até a ausência de mucosa em alguns casos.

Ao nosso entender, estas alterações estariam mais relacionadas com a possibilidade de incidência de mortes, pois um dado estatístico justifica esta nossa impressão, que foi a conotação dos valores destes percentuais (Tabela 3) que apresenta relação próxima aos encontrados nos percentuais de sobrevivência (Tabela 1).

Associamos a presença destas alterações nos intestinos com a manifestação dos sinais clínicos e com o índice de morte observados na primeira fase



da peritonite, pois nenhum dos animais injetados com a solução fisiológica estéril (CSF) apresentou alteração aguda detectável a histopatologia dos intestinos, assim como também não evoluíram com sinais clínicos de sépsis e nem com morte, nos oito dias que durou o experimento.

Não encontramos explicação científica de como no grupo submetido ao pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> (IBP) o percentual de alterações agudas nos intestinos foi tão expressivamente baixo (6.3%); comparativamente ao grupo de laparotomia (IBL) que foi de 47.1% e ao grupo de inóculo bacteriano (CIB) que foi de 75%<sup>12,42</sup>.

Da mesma forma que em comentários anteriores, não sabemos como o pneumoperitônio com CO<sub>2</sub> pode ter interferido, uma vez que não se constatou Fenômeno Regenerativo nos músculos da parede abdominal dos ratos do grupo IBP (Tabela 4).

O Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) é um gás incolor, inodoro, insípido e atóxico. É um dos mais importantes gases que conhecemos, por ser um componente natural da atmosfera (0.035%) e por ser parte do ciclo básico da vida na natureza (produto da respiração, fermentação e combustão). Sua importância é reconhecida também por suas amplas propriedades físico-químicas (não explosivo, não corrosivo, não condutor e não poluente) e pelo fato de ser inerte.

A presença do CO<sub>2</sub> aumentou a eficiência da destruição celular com o aumento da pressão do gás e do tempo de exposição. Este estudo mostrou que existe uma correlação linear entre a inativação microbiana e a pressão e o tempo de exposição ao CO<sub>2</sub><sup>14</sup>.

Com intuito de obter controle bacteriano na estocagem ou conservação de produtos alimentícios, diferentes autores estudaram a ação antimicrobiana do CO<sub>2</sub> em distintos tipos de alimentos, tais como: bife bovino<sup>17</sup>; peito de frango<sup>21</sup>; *nuggets* de frango<sup>31</sup>; e em vegetais<sup>6,9,27,28</sup>. Existe uma tendência cada vez maior na aplicação deste gás no controle de produtos alimentícios perecíveis proporcionada por uma possível ação antimicrobiana.

De maneira sintética e ordenada estes são alguns dados que nos pareceram relevantes:

1. A sobrevida no último dia do experimento foi distinta entre os quatro grupos: CSF (100%) > IBP (75%) > IBL (53%) > CIB (30%);

2. A diferença entre estes percentuais de sobrevida no último dia do experimento foi significativa ( $p < 0,05$ ) entre o par CIB vs IBP e não significativa entre o par CIB vs IBL;

3. A análise de variância para dois critérios de classificação complementada pelo teste "post hoc" de Student-Newman-Keuls, no estudo histopatológico da Inflamação Aguda, teve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pares CSF vs CIB e CSF vs IBL e não significativa entre o par CSF vs IBP.

## CONCLUSÃO

Frente à revisão da literatura, a pesquisa por nós executada em nível de investigação experimental, cujos dados relevantes acima descrevemos, permitiu chegarmos à conclusão da existência de uma possível ação inibidora do gás CO<sub>2</sub> (IBP) na evolução da peritonite induzida com cepa única de *E. coli* (CIB).

## ABSTRACT

*OBJECTIVE: The video-surgery technique realizing the pneumoperitoneum with the Carbon Dioxide gas in the last ten years improving the treatment of contagious diseases of the abdominal cavity frames. Some authors have advised against its application in more complex cases of bacterial infections, claiming worsening of the post-surgery process, as opposed to those that choose this technique, which have not experienced such result. Carbon Dioxide (CO<sub>2</sub>) has been used in the food industry in its application as antimicrobial agent. The objective was to find out if this fact could be confirmed, by pneumoperitoneum with the CO<sub>2</sub>. MATERIAL AND METHODS: Peritonitis was developed in rats using as inoculum *E. coli*,  $6 \times 10^5$  UFC/ml. The rats were randomised in four groups: control of the rats (CSF N=15); control of the bacterian inoculum (CIB N=10); bacterian inoculum and laparotomy (IBL N=17); and bacterian inoculum and pneumoperitonium with CO<sub>2</sub> (IBP N=16). We evaluated the survival and the histopatological alterations (muscles of the abdominal cavity, spleen, liver, intestines and mesos) classifying them as follows: Preserved; Acute Inflammation and Regenerative Phenomenom. RESULTS: The survival percentage ( $p < 0,05$ ) between CSF vs CIB; CSF vs IBL and CIB vs IBP. In the acute inflammation occurred statistical difference significant in the analyses of variancy according to two classification criteria ( $p < 0,05$ ) such identification of group pairs found by the test "post hoc" of Student-Newman-Keuls corresponded to CSF vs CIB and CSF vs IBL. CONCLUSION: The authors concluded that the CO<sub>2</sub> application could represent a protective action in this sample of bacterian peritonitis in rats.*

**Keywords:** PNEUMOPERITONEUM/mortality. CARBON DIOXIDE. COMPARATIVE STUDY LAPAROTOMY/mortality. LAPAROSCOPY/mortality. PERITONITIS/surgery. ESCHERICHIA COLI/pathogenicity. RATS INBRED F344.

### Agradecimentos

Aos Drs. Fábio S. Goffi, Antonio Cláudio de Godoy e Nagamassa Yamagushi pelo apoio e estímulo a esta pesquisa.

Às senhoras Luci Ebisui e Raquel Guedes, pelo apoio técnico laboratorial; à senhora Jeane G. Bronzatti, encarregada pelo centro de material do Hospital Alemão Oswaldo Cruz; ao senhor e senhora Milton Ferraz Costa, pela composição gráfica; e à diretoria da firma Endoview.

### Referências Bibliográficas

- Anderson R, Tranberg KG, Alwark A, Bengmark S. Factors influencing the outcome of *E. coli* peritonitis in rats. *Acta Chir Scand* 1989; 155:155-157.
- Anderson R, Willen R, Massa G, Tranberg KG, Carlen B, Bengmark S. Effect of bile on peritoneal morphology in *Escherichia coli* peritonitis. *Hepatogastroenterology* 1991; 38:405-411.
- Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research* 3. Ed. Cambridge: Blackwell Science Ltd.; 1996.
- Balague C, Taragona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. *Surg Endosc* 1999; 13(8):792-796.
- Bartlett JG, Onderdonk A B, Louie T, Kasper DL, Gorbach SL. Lessons from an animal model of intra-abdominal sepsis. *Arch Surg* 1978; 113:853-857.
- Bennik MHJ, Smid EJ, Rombouts FM, Gorris LGM. Growth of psychrotrophic foodborne pathogens in a solid surface model system under the influence of carbon dioxide and oxygen. *Food Microbiology* 1995; 12:509-519.
- Berci G. Elective and emergent laparoscopy. *World J Surg* 1993; 17:8-15.
- Bier O. *Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene*. 16.ed. São Paulo: Melhoramentos-EDUSP; 1975. p.171-172 e 786-787.
- Brody AL. Envasado de alimentos em atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Zaragoza, Acribia; 1966. p.213.
- Casaroli AA. Repercussão do pneumoperitônio e da ventilação controlada sobre a depuração linfática peritoneal de bactérias. Estudo experimental em ratos. [dissertação de Tese-Doutorado] São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 1999.
- Chekan EG, Nataraj C, Clary EM, Hayward TZ, Brody J, Stamat JC, et al. Intraperitoneal immunity and pneumoperitoneum. *Surg Endosc* 1999; 13(11):1135-1138.
- Damy SB, Ebsui L, Spinelli MO, Sorbello A, Osaka JT, Tolosa EMC. Camundongos isogênicos A/SNELL, BALB/c e C57BL/6 como modelos biológicos de sepsis intra-abdominal. *Rev Med HU – USP* 1997; 7:36-42.
- Dawson-Saunders B, Trapp RG. *Basic & Clinical Biostatistics*. 2ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1994.
- Debs-Louka E, Louka N, Abraham G, Chabot V, Allaf K. Effect of compressed carbon dioxide on microbial cell viability. *Appl. Environ Microbiol*, 65(2): 626-631. Obtido via base de dados MEDLINE Abstracts. Disponível na Internet URL <http://www.MDchoice.com>, Smart MEDLINE Search.
- Evasovich MR, Clark TC, Horattas MC, Treen L. Does pneumoperitoneum during laparoscopy increase bacterial translocation? *Surg Endosc* 1996; 10:1176-1179.
- Geis WP, Kim HC. Use of laparoscopy in the diagnosis and treatment of patients with surgical abdominal sepsis. *Surg Endosc* 1995; 9:178-182.
- Gill CO, Delacy KM. Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on high-pH beef packed under vacuum or carbon dioxide. *Int J Food Microbiology* 1991; 13:21-30.
- Glantz SA. *Primer of biostatistics*. New York: McGraw-Hill; 1996.
- Guilgen GA, Czesko NG, Malafaia O, Simoes JC. Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos - estudo experimental em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1998; 25:39-43.
- Gurtner GC, Robertson CS, Chung CS, Ling SM, Ip SM, Li AK. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteraemia and endotoxaemia in an animal model of peritonitis. *Br J Surg* 1995; 82:944-948.
- Hart CD, Mead GC, Norris AP. Effects of gaseous environmental and temperature on the storage behavior of *Listeria monocytogenes* on chicken breast meat. *J Appl Microbiol* 1991; 70: 40-46.
- Hau T, Hoffman R, Simmons RL. Mechanisms of the adjuvant effect of hemoglobin in experimental peritonitis. In vivo inhibition of peritoneal leukocytosis. *Surgery* 1978, 83(2):223-229.
- Hendry WS, Capt MC, Sleeman HK, Diggs JW. Pathophysiology of experimental peritonitis in the rat. *Exp Med Surg* 1966; 24:303-312.
- Jacobi CA, Ordemann J, Bohm B, Zieren HU, Volk HD, Lorens W, Halle E, Muller JM. Does laparoscopy increase bacteremia and endotoxemia in a peritonitis model? *Surg Endosc* 1997; 11:235-238.
- Jacobi CA, Ordemann J, Zieren HU, Volk HD, Bauhofer A, Halle E, Muller JM. Increased systemic inflammation after laparotomy vs laparoscopy in an animal model of peritonitis. *Arch Surg* 1998; 133:258-262.

26. Kauffmann F. The serology of the *coli* group. J Immunol 1947; 57(1):71-100.
27. Lee L, Arul L, Lencki R, Castaaaigne F. A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables physiological basis and practical aspects - Part I. Packaging Technol Scie 1995; 8(6):315-331.
28. Lee L, Arul L, Lencki R, Castagne F. A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects - Part II. Packaging Technol Scie 1996; 9(1):1-12.
29. Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. J Infect Dis 1987; 155(3):377-389.
30. Lujan MJA, Robles CR, Parrilla PP, Soria AV, Garcia AJ. Laparoscopi vs. open appendicectomy: a prospective assessment. Br J Surg 1994; 8:133-135.
31. Marshall DL, Wiese-Lehigh PL, Wells JH, Farr AJ. Comparative growth of *L. monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken nuggets stored under modified atmospheres. J Food Protection 1991; 54(11):841-843.
32. Matlow AG, Bohnen JMA, Christou N, Meakins J. Pathogenicity of *enterococci* in a rat model of fecal peritonitis. J Inf Dis 1989; 160(1):142-145.
33. O'Sullivan GC, Murphy D, O'Brien MG, Ireland A. Laparoscopic management of generalized peritonitis due to perforate colonic diverticula. Am J Surg 1996; 171:432-434.
34. Özmen MM, Çol C, Aksoy AM, Teleki FA, Berberoglu M. Effect of CO<sub>2</sub> insufflation on bacteremia and bacterial translocation in a animal model of peritonitis. Surg Endosc 1999; 13(8):801-813.
35. Palombo JD, Liu K, Greif WM, Rawn JD, Boyce PJ, Forse RA. Effects of laparoscopic vs laparotomy treatment of *E. coli* peritonitis on hemodynamic responses in a porcine model. Surg Endosc 1999; 13(10):1001-1006.
36. Pier A, Got Z., Gutierrez AAG, Barros MNO, Carim JAV. Apendicectomia laparoscópica. In: CREUZ, O. Manual de vídeo laparoscopia. Rio de Janeiro: Revinter; 1993. cap.30, p.289-301.
37. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent end points. Am J Hyg 1938; 27(3):493-497.
38. Sack B. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: identification and haracterization. J Infect Dis 1980; 142(2):279-286.
39. Sare M, Yesilada O, Gurel M, Balkaya M, Yologlu S, Fiskin K. Effects of CO<sub>2</sub> insufflation on bacterial growth in rats with *Escherichia coli* - induced experimental peritonitis. Surg Laparosc Endosc 1997; 7(1):38-41.
40. Schiavon CA, Younes RN, Pollara WM, Itinoshe M, Birolini D. Videolaparoscopia em ratos: um novo modelo experimental. Rev Col Bras Cir 1998; 25(2):111-112.
41. Silva LN, Cardoso MB, Gondek JFL, Esmanhoto L, Sebastiao APM, Simoes JC. Peritonite aguda experimental em ratos: modelo de bloqueio transdiafragmático com membrana celulósica. Rev Col Bras Cir 1998; 25(2):113-117.
42. Sorbello A A. Estudo comparativo de suscetibilidade á peritonite induzida por *Escherichia coli*, em camundongos isogênicos. [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Hospital do Servidor Público Estadual - Francisco Morato de Oliveira; 1997.
43. Taffinder NJ, Cruaud P, Catheline JM et al. Bacterial contamination of pneumoperitoneum gas in peritonitis and controls: a prospective laparoscopic study. Acta Chir Belg 1997; 97:215-216.
44. Tang E, Ortega AE, Anthone GJ, Beart-Jr BW. Intraabdominal abscesses following laparoscopic and open appendicectomy. Surg Endosc 1996; 5:125-128.
45. Vuopio-Varkila J, Karvonen M, Saxex H. Protective capacity of antibodies to outer-membrane components of *Escherichia coli* in a systemic mouse peritonitis model. J Med Microbiol 1988; 25:77-88.

**ANÁLISE COMPARATIVA DA EVOLUÇÃO DA PERITONITE INDUZIDA POR INÓCULO PADRONIZADO DE ESCHERICHIA COLI EM RATOS - CONTROLES, LAPAROTOMIA E PNEUMOPERITÔNIO COM DIÓXIDO DE CARBONO \***

Albino Augusto Sorbello <sup>1</sup>, Suely Blanes Damy <sup>2</sup>, Junko Takano Osaka <sup>3</sup>, Renato Andretto <sup>4</sup>, Luis Cláudio Mattosinho-França <sup>5</sup>, Arnaldo Zanotto <sup>6</sup>, Erasmo Magalhães de Castro Tolosa <sup>7</sup>

1. Doutor em Técnica Cirúrgica pela Faculdade da Universidade de São Paulo. Médico do Serviço de Gastroenterologia Cirúrgica e da Cirurgia Experimental do Hospital do Servidor Público Estadual.
2. Supervisor Técnico de Serviço, Diretoria Técnica de Apoio ao Ensino e à Pesquisa da Faculdade de Medicina (DTAEP-FMUSP)
3. Bioquímica. Disciplina Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da FMUSP.
4. Diretor do Serviço de Cirurgia Experimental do Hospital do Servidor Público Estadual.
5. Diretor do Serviço de Anatomia-Patológica do Hospital do Servidor Público Estadual.
6. Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da FMUSP.
7. Professor Titular da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da FMUSP.

**Endereço para correspondência:**

Rua Princesa Isabel, 1472 - São Paulo - SP  
CEP04601-003  
Tel: + 55 11 5542-8800  
e-mail: smcsorbello@uol.com.br