

Paulo Roberto Rodrigues Bicalho

**A INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO PERITONEAL DE CLORHEXIDINA OU DE
SOLUÇÃO SALINA NA CICATRIZAÇÃO DO CÓLON DE RATOS COM
PERITONITE**

Belo Horizonte

2009

Paulo Roberto Rodrigues Bicalho

A INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO PERITONEAL DE CLORHEXIDINA OU DE
SOLUÇÃO SALINA NA CICATRIZAÇÃO DO CÓLON DE RATOS COM
PERITONITE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Ivana Duval de Araújo

Instituição: Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

Belo Horizonte

2009

Bicalho, Paulo Roberto Rodrigues

A influência da irrigação peritoneal de clohexidina ou de solução salina na cicatrização do cólon de ratos com peritonite (manuscrito) / Paulo Roberto Rodrigues Bicalho – 2009.

65 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, MG, 2009.

Orientadora: Ivana Duval de Araújo

1. Peritonite. 2. Cavidade peritoneal. 3. Irrigação peritoneal. Araújo, Ivana Duval de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Ronaldo Tadeu Pena

Vice-Reitora: Prof^a. Dr^a Heloisa Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Jaime Arturo Ramires

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coord. do Centro de Pós-Graduação: Prof. Dr. Carlos Farias das Santos Amaral

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

Chefe: Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

Vice-Chefe: Prof. Dr. Marco Túlio Costa Diniz

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA

Coordenador: Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Sub-Coordenador: Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Membros: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Paulo Roberto Rodrigues Bicalho

A INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO PERITONEAL DE CLORHEXIDINA OU DE SOLUÇÃO SALINA NA CICATRIZAÇÃO DO CÓLON DE RATOS COM PERITONITE

Dissertação apresentada e defendida perante a comissão examinadora em
____ 11 ____ de _____ maio _____ de 2009, constituída
pelos professores:

Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha

Prof^a. Dr^a. Maria Isabel Toulson Davisson Correia

Prof^a. Dr^a. Ivana Durval de Araújo (Orientadora)

Resultado: _____

Belo Horizonte

2009

*À minha esposa, Maria Gabriela e filhos:
Daniel, Lucas e Vitor pelo tempo que nos
privamos de nossas companhias.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Ivana Duval de Araújo, pelo acolhimento, carinho e paciência desde os primeiros rascunhos dos projetos, pela orientação desta dissertação, enfim por criar dentro do Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia desta faculdade o ambiente propício para meu crescimento científico, onde o trabalho foi antes de tudo um prazer;

Ao Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes pela disposição em ler, rever, sugerir, acompanhar e, sobretudo enriquecer este e outros trabalhos em que estivemos juntos;

Ao colega e amigo Daniel Gomes de Alvarenga, médico patologista com quem dividi as tarefas de examinar, classificar e tabular os dados histológicos desse trabalho;

Ao Prof. Dr. José Carlos Serufo, que além de discutir o emprego de análises séricas nesse trabalho recebeu e examinou as amostras;

À fisioterapeuta Irene Almeida Martins pelo incentivo e auxílio na organização dos dados bibliográficos, digitação e correções desse trabalho;

Aos acadêmicos da faculdade de medicina da UFMG Claudio Alvarenga Campos Mayrink e Fernando Fernandes pelo incentivo e auxílio imprescindíveis nas diversas etapas e afazeres no laboratório de cirurgia experimental;

Ao Prof. Dr. Cláudio de Souza, professor de Bioética do programa, pelos ensinamentos durante o curso dessa disciplina e pelo apoio e orientação do primeiro projeto que apresentei ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia desta faculdade;

Aos coordenadores, professores, funcionários e colegas do curso de Pós-Graduação pelas opiniões importantes, ideias sensatas e convívio amigável, entre os quais vi surgirem algumas amizades e estreitarem-se outras;

Ao Prof. Dr. Antônio Sérgio Alves, professor da Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, onde me formei que foi o grande incentivador do meu desenvolvimento científico, pela paciência em examinar com carinho os primeiros escritos que abriram os caminhos para essa dissertação;

Aos colegas da equipe de cirurgia do Hospital Municipal Odilon Berhens, onde fiz residência em cirurgia geral, médicos Dionísio Saad Bechara, Estevão Ferreira Leite e Elias Bichara entre outros que me iniciaram nesta fascinante área, que tem muito de ciência e arte: a cirurgia;

Aos colegas da equipe de cirurgia do Hospital João XXIII da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais - FHEMIG, onde fiz residência em cirurgia do trauma, médicos Wilson Luiz Abrantes, Domingos André Fernandes Drumond, entre outros, por despertarem em mim o interesse científico;

Aos colegas do Serviço de Endoscopia do Hospital Felício Rocho, onde fiz estágio em Endoscopia Digestiva, médicos Edvaldo Fraga Moreira, Prof. Dr. Walton Albuquerque, Paulo Fernando S. Bittencourt que sempre destacaram a necessidade e a importância da capacitação científica tanto para o exercício profissional e como para o crescimento pessoal;

Aos colegas da UNIVALE, onde fiz especialização em Imunopatologia, Prof. Dr. Luiz Cosme Cotta Malaquias, orientador da monografia de especialização em Imunopatologia, Prof^a. Dr^a. Fabíola Alves dos Reis, fisioterapeuta Leandro Bueno Lima pela amizade pelo incentivo e colaboração em todos os momentos;

A todos aqueles que de alguma forma participaram da minha formação científica e profissional e na elaboração e execução desse projeto e que involuntariamente omiti.

“Fui nutrido nas letras desde a infância e por me haver persuadido de que, por meio delas, se podia adquirir um conhecimento claro e seguro de tudo que é útil na vida, sentia extraordinário desejo de aprendê-las. Mas, logo que terminei todo esse curso de estudos ao cabo do qual se costuma ser recebido na classe dos doutos, mudei inteiramente de opinião. Pois me achava enleado em tantas dúvidas e erros que me parecia não haver obtido outro proveito procurando instruir-me senão o de ter descoberto cada vez mais a minha ignorância.”

Renè Descartes (1596-1650), Discurso de Método

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP: adenosina monofosfato

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

°C: Graus Centígrados

DPO: Dia Pós Operatório

ICB: Instituto de Ciências Biológicas

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

LPC: Ligadura e punção do ceco

Kg: Kilograma

M/F: Relação macrófago/fibroblasto

mg: miligramas

mm: milímetros

p: Valor p- probabilidade

PGE2: Prostaglandina E2

PGI2: Prostaglandina I2

PVPI- Polivinilpirrolidona-iodo

TNF α : Fator de necrose tumoral α

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

μ m: Micrômetro

Receptor Fc: Receptor de membrana para imunoglobulina

Receptor C₃ : Receptor de membrana para fração 3 do complemento

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Classificação das aderências entre a anastomose colônica e o peritônio, ou com outras vísceras.....17

Quadro 2- Classificação da dilatação das alças intestinais a montante da linha da anastomose.....17

Quadro 3- Parâmetros histológicos de classificação da gravidade da peritonite.....20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultados da inspeção macroscópica da cavidade peritoneal e da anastomose do cólon de 21 ratos sem peritonite (Grupo A) ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B) ou com solução de clorhexidina (Grupo C).....	23
Tabela 2- Resultados da avaliação microscópica do peritônio visceral de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).....	27
Tabela 3- Resultados da avaliação microscópica do peritônio parietal superior de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).....	29
Tabela 4- Resultados da avaliação microscópica do peritônio parietal inferior de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).....	31
Tabela 5- Medianas, valores mínimos e máximos das pressões de ruptura, em milímetros de mercúrio (mmHg) das anastomoses colônicas de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).....	33

LISTA DE GRÁFICOS E FIGURAS

- Figura 1- Confeção da bolsa cecal com dispositivo de ligadura elástica em rato para indução de peritonite.....14
- Figura 2- Anastomose no cólon direito de rato (seta). No detalhe, anastomose concluída.....16
- Figura 3- Aderências de alças de delgado à anastomose colônica em rato 7 dias após confecção da anastomose e após tratamento da peritonite.....18
- Figura 4- Sistema para mensuração da pressão de ruptura de anastomoses intestinais.....19
- Figura 5- Intensidade das aderências perianastomóticas em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....22
- Figura 6- Intensidade da distensão de alças a montante da anastomose em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....23
- Figura 7- Relação macrófago fibroblasto (M/F) à microscopia óptica (aumento de 400X) do peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....24
- Figura 8- Intensidade do edema de células mesoteliais, à microscopia óptica (aumento de 400X), do peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....25

Figura 9- Intensidade de exsudato de fibrina, à microscopia óptica (aumento de 400X), no peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....26

Figura 10- Gravidade da peritonite de 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).....32

Figura 11- Pressão de ruptura das anastomoses de 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina.33

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	03
2 REVISÃO DE LITERATURA	05
2.1 PERITONITE.....	05
2.2 TRATAMENTO DA PERITONITE.....	07
2.3 CICATRIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES SEROSAS NA PERITONITE.....	09
3 OBJETIVOS	10
4 RELEVÂNCIA	11
5 MATERIAIS E MÉTODO	12
5.1 ANIMAIS UTILIZADOS E CUIDADOS DISPENSADOS.....	12
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	12
5.3 INDUÇÃO DA PERITONITE.....	13
5.4 TRATAMENTO DA PERITONITE COM SOLUÇÃO SALINA A 0,9%.....	14
5.5 TRATAMENTO DA PERITONITE COM SOLUÇÃO DE CLORHEXIDINA.....	15
5.6 REALIZAÇÃO DA ANASTOMOSE COLÔNICA.....	15
5.7 COLETA DE AMOSTRAS.....	16
5.8 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	17
5.9 AVALIAÇÃO FUNCIONAL.....	18
5.10 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA.....	19
5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
6 RESULTADOS	21
6.1 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA.....	21
6.2 ANASTOMOSE INTESTINAL.....	21
6.2.1 MACROSCOPIA	21
6.2.2 MICROSCOPIA	24
6.2.2.1 MICROSCOPIA DO PERITÔNIO VISCERAL	24
6.2.2.2 MICROSCOPIA DO PERITÔNIO PARIETAL SUPERIOR	28
6.2.2.3 MICROSCOPIA DO PERITÔNIO PARIETAL INFERIOR.....	30
6.3 GRAVIDADE DA PERITONITE.....	32
6.4 PRESSÃO DE RUPTURA.....	32
7 DISCUSSÃO	34

8 CONCLUSÕES.....	41
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

RESUMO

Introdução: clorhexidina é um anti-séptico com amplo espectro de ação e baixa toxicidade, em concentrações terapêuticas, tanto em modelos animais quanto na prática clínica. Alguns estudos, em animais, tem sugerido um efeito deletério da peritonite na cicatrização das anastomoses, particularmente no cólon. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da clorhexidina na cicatrização de anastomoses colônicas em presença de peritonite.

Método: induziu-se peritonite em 16 ratos pela técnica de ligadura e punção do ceco (LPC), no grupo controle não foi promovido infecção. Após 2 horas, os animais foram submetidos à relaparotomia e divididos em 3 grupos: controle (mobilização cecal e anastomose, grupo A, n 08); Salina (indução de peritonite, anastomose e irrigação de solução salina, grupo B, n 08) e clorhexidina (indução de peritonite, anastomose e irrigação de solução de clorhexidina, grupo C, n 08). Os ratos foram mortos no 7 ° dia pós-operatório, colhidas biópsias peritoneais, e ressecado seguimento colônico contendo a anastomose, para aferição da pressão de ruptura das anastomoses e avaliação histopatológica.

Resultados: não houve diferença na mortalidade ($p = 0,27$), nem na incidência de aderências entre os grupos A, B e C com média de $1,6 \pm 0,9$; $1,1 \pm 0,4$ e $1,8 \pm 0,8$ respectivamente, entretanto, elas foram firmes em todos os casos (100%) no grupo tratado com clorhexidina. A média do grau de inflamação peritoneal foi $2,75 \pm 1,03$ no grupo A; $2,43 \pm 1,13$ no grupo B; e $0,83 \pm 0,75$ no grupo C ($p = 0,01$). A pressão de ruptura também foi menor de nos animais do grupo C ($156,7 \pm 53,2$) comparados aos animais tratados com solução salina ($208,6 \pm 72,7$), e controle ($196,3 \pm 49,8$), $p = 0,06$.

Conclusão: o grau de inflamação do peritônio visceral foi menor nos animais tratados com clorhexidina quando comparados àqueles em que a cavidade foi lavada com solução salina.

ABSTRACT

Background: Chlorhexidine is an antiseptic that has a broad spectrum of activity and low toxicity profile, at therapeutic concentrations, in both animal models of peritonitis and clinical setting. Some animal studies, the delaying effect of intraperitoneal sepsis on the healing of colonic anastomoses has been shown. This study aimed to investigate the effects of Chlorhexidine on the healing of colonic anastomoses in the presence of polymicrobial sepsis.

Methods: intra-abdominal infection was produced in 16 rats by the cecal ligation and puncture technique (CLP), at control group no infection was made. After 2 hours, the animals underwent relaparotomy and divided into 3 groups: control (cecal mobilization and anastomosis, group A, n 08); Saline (Intra-abdominal infection, anastomosis and saline solution lavage, group B, n 08); and Chlorhexidine (Intra-abdominal infection, anastomosis and chlorhexidine lavage, group C, n 08). The rats were killed on 7th postoperative day, harvested peritoneal biopsies and resected colon containing anastomosis to measure the bursting pressure and examined the resected specimens histologically.

Results: no difference in mortality was found ($p = 0.27$). The incidence of adhesions was 1.6 ± 0.9 , 1.1 ± 0.4 and 1.8 ± 0.8 in groups A, B and C respectively, however, they were strong in all cases (100%) in the group treated with chlorhexidine. The average of peritoneal inflammation degree was 2.75 ± 1.03 in group A; 2.43 ± 1.13 in group B; and 0.83 ± 0.75 in group C ($p = 0.01$). The bursting pressures was also lower in animals of group C (156.7 ± 53.2) than that treated with saline (208.6 ± 72.7) and control (196.3 ± 49.8), $p = 0.06$.

Conclusions: the visceral peritoneum inflammation was lower in animals treated with chlorhexidine than those of saline group.

1. INTRODUÇÃO

A peritonite secundária é uma afecção de ocorrência comum na clínica cirúrgica, e a perfuração colônica encontra-se entre uma de suas causas. Nessa circunstância, a sutura primária do cólon, principalmente aquela realizada em seus segmentos distais é evitada pelo risco de fístula que poderia manter a infecção, originando quadro de imunodepressão e inflamação sistêmica.¹ A incapacidade de conter o processo infeccioso, seja por persistência da agressão pelo patógeno ou por imunodepressão, associa-se com elevadas morbidade e mortalidade,^{2,3,4,5,6} e a cicatrização das alças intestinais poderia ser prejudicada pela contaminação da cavidade peritoneal, aumentando o risco de reparo inadequado e fístula.^{7,8,9,10,11,12}

O tratamento atual da peritonite secundária consiste na adoção de medidas gerais como monitorização, reposição volêmica, terapia antimicrobiana de amplo espectro e, principalmente, controle do foco infeccioso^{2,13,14,15,16,17,18}. A utilização da irrigação da cavidade peritoneal é usada para reduzir a contaminação bacteriana e a solução salina tem sido utilizada como tratamento padrão para irrigação peritoneal na peritonite.¹⁹ A adição de substâncias como antissépticos e antimicrobianos foi proposta em estudos clínicos e experimentais^{20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35}. Entretanto, em diversos estudos, não houve demonstração clara da superioridade dessa adição ao uso de solução salina quando comparados^{20,21,29,32,36,37}.

Estudos realizados relatam redução da mortalidade em modelos experimentais de peritonite após a irrigação peritoneal com soluções de clorhexidina 0,05%.^{20, 22, 26, 33}. Entretanto, o acréscimo de substâncias ao líquido de irrigação não é inócuo³⁸. Sabe-se que irrigação com soluções, *per si*, pode remover células e cininas importantes na cicatrização, além de células mesoteliais da superfície serosa das alças intestinais e do peritônio parietal^{21,39,40}. Também esses anti-sépticos podem interferir na função celular, inibindo a função de macrófagos e de outras células envolvidas no processo de cicatrização de feridas^{4,38}.

Com adequado controle da peritonite e da resposta inflamatória gerada pela infecção, supõe-se que ocorra uma cicatrização mais eficiente da sutura intestinal, reduzindo o risco de fístulas no pós-operatório. Dessa forma, ao se realizar a limpeza da cavidade com uma solução anti-séptica de baixa toxicidade local, como

clorhexidina, haveria redução da ação bacteriana na cavidade peritoneal, redução da inflamação local e, com isso, favorecimento da fibroplasia que, em última análise, resultaria em cicatrização mais eficiente da anastomose colônica em presença de peritonite.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PERITONITE

O termo peritonite significa inflamação do peritônio por qualquer causa, enquanto o termo infecção intra-abdominal diz respeito à peritonite causada por bactérias. Como a maior parte das peritonites clinicamente significativas são causadas por bactérias, na prática, ambos os termos são usados como sinônimos, o que também será feito nesse trabalho.¹⁸ Esta inflamação é a expressão final de um grupo heterogêneo de afecções muito comuns na prática cirúrgica, cuja gravidade da apresentação clínica varia consideravelmente¹⁵. A maioria dos casos é relativamente simples e resolvidos com antibioticoterapia de largo espectro e controle do foco infeccioso.¹⁵ Todavia, há situações de infecção generalizada, ativação exagerada do sistema imune, instabilidade hemodinâmica e falência múltipla de órgãos. Nestes casos, quando advém o choque séptico, a mortalidade está em torno de 35% e pode chegar a 70%². A evolução do processo depende do resultado da interação entre as defesas sistêmicas e peritoneais, de um lado, e o dano provocado pelo volume, natureza e duração da contaminação, de outro.¹¹

Tem-se classificado as peritonites em primária, nas quais há infecção peritoneal difusa associada à integridade do tubo digestivo e cuja etiologia está associada a um único patógeno; secundária, que se caracteriza por infecção peritoneal aguda resultante ou de perfuração de víscera oca, ou deiscência da anastomose ou pancreatite necrotizante infectada, geralmente polimicrobiana; e finalmente terciária que se refere àqueles pacientes que não conseguem conter a infecção, por contaminação persistente ou imunodepressão. A origem das infecções intrabdominais adquiridas na comunidade são, geralmente, doenças perforativas do apêndice, do cólon e do estômago e entre os pacientes internados a principal causa de peritonite são as fístulas gastrointestinais².

O peritônio, cuja função é manter a integridade dos órgãos intrabdominais, possui duas faces; uma parietal e outra visceral. A superfície dessa membrana é macia, lisa e úmida, protege as vísceras e permite a livre movimentação dos intestinos. Desenvolve-se a partir do endotélio embrionário e é formado por tecido

conjuntivo sobre o qual está assentada a membrana basal, constituída de uma camada de células mesoteliais, as quais assumem, na porção muscular do diafragma, características anatômicas e funcionais especializadas. Nessa região, arranjam-se na forma de inúmeros orifícios chamados “estomas”, cujo tamanho varia de 4 a 12 μm , e se comunicam diretamente com canais linfáticos, as lacunas. Estes estão posicionados paralelamente às fibras musculares do diafragma, exibem válvulas que impedem o refluxo da linfa, drenam para os linfonodos mediastinais e destes para o ducto torácico. Os linfáticos e macrófagos peritoneais, além da migração de neutrófilos polimorfonucleares constituem os três maiores mecanismos de defesa nos casos de peritonite⁴¹.

Os macrófagos são continuamente renovados a partir da população de monócitos circulantes e conhecidos por sua intensa atividade antimicrobiana. Essa atividade se caracteriza pela presença de receptores Fc e C₃, pela grande capacidade fagocitária e por sua função na apresentação de antígenos da resposta imunológica mediada por linfócitos. Também são responsáveis pela liberação de inúmeras substâncias importantes na inflamação local e sistêmica, como prostaglandinas e leucotrienos⁴. Em presença de infecção, os macrófagos peritoneais assumem um fenótipo característico,⁴² com redução da atividade do AMP cíclico, secreção espontânea, e sob estímulo de endotoxinas, de grandes quantidades de prostaglandinas vasodilatadoras como a PGE₂ e PGI₂, citocinas pró-inflamatórias como interleucinas 6 e 8 (IL-6 e IL-8), além de fator de necrose tumoral α (TNF α)⁴³. Essas citocinas são responsáveis pela exsudação peritoneal, ativação das defesas locais, quimiotaxia para polimorfonucleares, e estímulo à fagocitose.⁴⁴ Mas, nos casos em que há a sua super-expressão, ocorre aumento de lesão tecidual por aumento dos níveis de óxido nítrico, redução da opsonização de bactérias e falência orgânica^{5,45}.

A ação das endotoxinas bacterianas sobre as defesas do peritônio promove exsudação peritoneal, que, somada à vasodilatação, favoreceria a absorção de toxinas e bactérias e a passagem de produtos tóxicos para a circulação sistêmica por via hematogênica e pelos linfáticos peritoneais via ducto torácico⁴⁶. O aumento na produção do TNF α e interleucinas pelos macrófagos peritoneais em presença de sepse parece ocorrer precocemente, provavelmente estimulado pelas endotoxinas presentes no líquido de exsudação peritoneal⁴⁷. A participação desses macrófagos superestimulados na peritonite caracteriza-se pela incapacidade de produzir e/ou

secretar o fator estimulador de colônias de macrófagos responsável pela diferenciação de monócitos e quimiotaxia de macrófagos para a região acometida.⁴⁸ A incapacidade do sistema imune de prevenir adequadamente a falência orgânica após uma infecção peritoneal pode estar associada com a perda da capacidade fagocitária e aumento da síntese, pelos macrófagos, das citocinas de fase inflamatória,⁴⁹ e das prostaglandinas vasodilatadoras (PGE2 e PGI2).⁶

2.2 TRATAMENTO DA PERITONITE

Os princípios do tratamento da peritonite foram preconizados por Poppert (*apud* Poppert)⁵⁰, e estabelecidos, dez anos mais, tarde por Martin Kirschner. Este conseguiu reduzir em 50% a mortalidade da doença, introduzindo conceitos que perduram até os dias atuais, por exemplo, o controle do foco infeccioso como princípio do tratamento¹⁴. A intervenção terapêutica precoce é importante para interromper a cadeia de auto-perpetuação do processo inflamatório, que gera a síndrome da resposta inflamatória sistêmica mediada pela liberação de grandes quantidades de óxido nítrico, com consequente asfixia das células por interrupção do ciclo de Krebs^{18,45}.

O ponto chave no tratamento da peritonite é a interrupção da fonte de contaminação e a remoção de substâncias irritantes, como bile, sangue e fezes.¹⁷ Todas as outras medidas, como reposição volêmica e terapia antimicrobiana são inúteis sem o controle adequado do foco¹⁶. A irrigação peritoneal com solução salina para o controle do foco infeccioso na peritonite bacteriana secundária mostrou resultados significativos na redução da mortalidade em experimentos^{23,24,27,28,34,51}. Esse tratamento reduz, em modelos experimentais, complicações piointumatorias, deiscência de anastomoses e mortalidade²⁸, além de facilitar a remoção de fibrina, pus e tecido necrótico^{13,14}.

A irrigação peritoneal com solução salina tem sido usada com segurança, sendo esta considerada como solução padrão para este fim e utilizada rotineiramente pela maioria dos cirurgiões com o objetivo de reduzir contaminação bacteriana e remover coágulos, fezes e tecido necrótico¹³. Seus resultados são controversos, pois, aparentemente, a irrigação peritoneal não teria efeito sobre a mortalidade ou índice de complicações pós-operatórias^{3,19,21,52}. Observa-se ainda

que após irrigação peritoneal com solução salina, há comprometimento da defesa celular do peritônio, com redução de células inflamatórias, diminuição e bloqueio da função dos macrófagos peritoneais, mediada pela produção inadequada de citocinas^{39, 40}.

A irrigação peritoneal com solução salina acrescida de antimicrobianos ou antissépticos tem sido advogada por outros autores^{20,22,23,24,25,26,27,28,30,32,35,53}. A adição de antimicrobianos mostra também resultados controversos^{17,19}. Embora em alguns estudos se mostre superior ao uso da solução salina, outros não evidenciaram benefícios relacionados ao seu uso^{21,40}, além disso podem disseminar infecção.³⁹ Existem vários argumentos contra a utilização dos antimicrobianos no líquido de irrigação, como o fato que essa terapêutica não elimina as bactérias da cavidade²¹, apresenta toxicidade^{29,38}, promove absorção não controlada da droga²⁴, favorece a formação de aderências, aumenta a produção de endotoxinas e inibe a atividade microbiana dos neutrófilos⁴⁰, além do que a bactéria deve ser exposta ao antimicrobiano por horas para haver efeito²⁴.

A adição de antissépticos ao líquido de irrigação parece produzir efeitos tóxicos.³⁸ Essas substâncias, além de não mostrarem resultados conclusivos na redução da morbimortalidade na peritonite, são citotóxicos para macrófagos humanos e parecem inibir a cicatrização^{21,38,54,55}.

A irrigação peritoneal de solução de polivinilpirrolidona-iodo (PVPI), o antisséptico mais estudado nessas circunstâncias, tem resultados controversos, havendo mais opositores do que defensores do seu uso^{20,22,38,29,55,29,32}. Contra seu uso, argumenta-se que a irrigação da cavidade com PVPI aumentou significativamente a mortalidade de ratos após infusão de bactérias^{20,22}. Acredita-se ainda que qualquer efeito deletério do uso do PVPI se deve mais à toxicidade sistêmica, como a acidose metabólica observada em cães²⁹, do que aos efeitos tóxicos locais⁵⁵. Localmente, observou-se que o uso do PVPI reduziu o percentual de neutrófilos na população de células peritoneais²² sendo capaz de causar danos sérios ao peritônio, principalmente na presença de peritonite²⁰. Além disso, o PVPI poderia estimular a liberação pelos macrófagos de grandes quantidades de TNF α e IL 6, citocinas que, além da capacidade de induzir a fase catabólica, interferem com a função de células fagocitárias circulantes²⁹.

A adição de clorhexidina ao líquido de irrigação peritoneal também não mostrou resultados conclusivos³². Estudos utilizando modelos animais de peritonite

demonstraram que a clorhexidina a 0,05% foi a solução mais eficiente na redução da mortalidade^{20,22,26,33}, sugerindo que o uso dessa substância reduz complicações infecciosas. Em contrapartida, estaria associado ao aumento de aderências peritoneais³¹.

2.3 CICATRIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES SEROSAS NA PERITONITE

A cicatrização dos tecidos caracteriza-se por uma sequência de eventos celulares e bioquímicos que resultam na recuperação da integridade após uma lesão. Nas alças intestinais esse processo se dá de maneira única no organismo, com diferenças em relação à pele e outros tecidos tanto na síntese do colágeno quanto na migração de fibroblastos⁵⁶. A resposta dos tecidos à lesão caracteriza-se pela infiltração de células inflamatórias de fase aguda, seguida da persistência de macrófagos. A síntese do colágeno, mediada por fibroblastos na anastomose, é uma das condições responsáveis pela aquisição da força tênsil capaz de tornar as cicatrizes resistentes com o tempo e, aparentemente, ocorre não somente na linha de sutura, mas ao longo de todo o trato digestivo⁵⁷.

A proliferação de fibroblastos é uma das primeiras fases da fibroplasia, precedendo a deposição de colágeno nas feridas⁵⁷. Sabe-se que a função intacta dos macrófagos peritoneais é indispensável para geração de uma resposta inflamatória adequada⁴⁸ e que a peritonite é causa do enfraquecimento das anastomoses intestinais, facilitando a formação de fístulas no período pós-operatório^{12,58}. Observa-se, *in vitro*, que os macrófagos são os principais responsáveis pela secreção de monocinas e fatores de crescimento que influenciam a proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno¹².

A variação nos índices da presença e da concentração de citocinas da fase inflamatória pode estar relacionada à perda da função de iniciador da resposta cicatricial em presença de peritonite⁴⁸. Segundo Hawley *et al* (1970), em presença de peritonite, a ativação dos macrófagos não se dá no sentido de favorecer a cicatrização, nessa situação a resposta inflamatória acontece reduzindo a capacidade de cicatrização das feridas,⁷ talvez por uma modificação fenotípica dos macrófagos peritoneais mediada pela infecção.⁴²

3. OBJETIVOS

- Avaliar a cicatrização do cólon de ratos após tratamento com clorhexidina ou solução salina pela pressão de ruptura e de parâmetros histológicos de cicatrização (inflamação, fibroplasia, angiogênese);
- Avaliar o grau de inflamação do peritônio parietal e visceral de ratos com peritonite tratados com solução salina ou clorhexidina.

4. RELEVÂNCIA

A sepse grave continua sendo uma complicação associada à alta morbidade e mortalidade após cirurgia abdominal. Apesar de recentes progressos na compreensão dos eventos associados à sepse abdominal, verifica-se que o número de pacientes acometidos vem aumentando, e os índices de recuperação vêm se alterando pouco. Assim, muitos aspectos relacionados à fisiopatologia da sepse abdominal e repercussões de seu tratamento merecem maior elucidação, visando determinar tratamentos mais eficazes com menor dano colateral.

5. MATERIAIS E MÉTODO

5.1 ANIMAIS UTILIZADOS E CUIDADOS DISPENSADOS

O experimento foi realizado de acordo com as Normas Internacionais para a Pesquisa Biomédica em Animais (1990) e com a Lei Federal nº. 6.638, de 08 de maio de 1979, portanto dentro dos preceitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG) em 10 de outubro de 2007 sob o protocolo 38/2007. Utilizaram-se 24 ratos Wistar, machos, com 12 semanas de idade. Os animais do grupo A (controle) apresentaram média de peso de $258,1 \pm 46,9$ g (mediana 267,5g, variando entre 155,0 e 315,0 g), os do grupo B (solução salina) $283,1 \pm 28,4$ g (mediana 277,5g, variando entre 250,0 e 340,0g) e os do grupo C (limpeza com clorhexidina) $258,3 \pm 31,6$ g (mediana 257,5g, variando entre 215,0 e 300,0 g). Todos os animais foram procedentes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e acomodados no depósito de pequenos animais da Faculdade Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) por pelo menos 20 dias antes da experimentação. Todos os animais foram acondicionados em gaiolas coletivas (no máximo seis animais por gaiola), dimensão 20X30X45 cm, de poliuretano com tampas de aço inoxidável, forradas com serragem de madeira branca e atóxica. O recipiente para água era graduado, de polietileno e atóxico. As gaiolas foram colocadas em ambiente seco, à temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro), água potável e ração (NOVILABE/MERCAVET S/A) oferecidos livremente em quantidades recomendadas para a espécie/idade.

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os 24 ratos estudados foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais:

- A (n=8): cirurgia simulada e anastomose colônica em plano único extramucoso;
- B (n=8): indução da peritonite, ressecção da parte necrótica do ceco, limpeza com gaze umedecida em salina à 0,9%, irrigação, por quatro vezes, com 05 ml dessa solução aquecida à 37°C e anastomose colônica em plano único extramucoso;
- C (n=8): indução da peritonite, ressecção da parte necrótica do ceco, limpeza com gaze umedecida em salina à 0,9%, irrigação, por quatro vezes, com 05 ml solução de clorhexidina 0,05% aquecida à 37°C e anastomose colônica em plano único extramucoso;

5.3 INDUÇÃO DA PERITONITE

Os animais foram retirados do depositário no dia do experimento, identificados, pesados e seus dados anotados em planilha do Microsoft Office Excel 2003-2007 (Microsoft Corporation, California USA).

Para anestesia dos animais, as drogas foram previamente diluídas, o animal contido pelo pesquisador e um auxiliar procedeu à aplicação. Utilizou-se para a anestesia quetamina (Cristália Prod Quim Farmac Ltda. Itapira SP) na dose de 40 mg/kg intra-muscular, xylazine (Schering-Plough, Cotia SP) 8 mg/kg dose de intra-muscular.

Uma vez anestesiado, foram ministrados a todos os animais 30mg/Kg de Ceftriaxona (ROCEPHIN, Roche), por via intramuscular, uma vez ao dia durante três dias. O animal foi posicionado em placa de cortiça em decúbito dorsal e imobilizado através da contenção das patas e da cauda com fita adesiva. Foi realizada tricotomia de toda a parede abdominal anterior e antisepsia da região epilada com solução de clorhexidina a 0,5%. A cavidade peritoneal foi acessada por incisão de três cm na linha mediana, nos animais dos grupos B e C, e o ceco identificado e apreendido com uma pinça de 20 mm introduzida através de um dispositivo de ligadura elástica, tracionando-se 5 mm da parede intestinal para dentro do referido dispositivo que disparado formou uma bolsa (**FIGURA 1**)⁶⁶. Essa “bolsa” foi puncionada duas vezes com agulha oca 40X12, permitindo a exteriorização do

conteúdo fecal. Nos animais do grupo A (controle) as alças foram manipuladas sem que se realizasse qualquer procedimento.

Foi realizado então o fechamento da parede com sutura contínua, em plano único com ácido poliglicólico 4-0 e, após um intervalo de duas horas, os animais foram novamente anestesiados e a cavidade abdominal tratada conforme o grupo para o qual o animal foi distribuído.



Figura 1- Confeção da bolsa cecal com dispositivo de ligadura elástica em rato para indução de peritonite.

5.4 TRATAMENTO DA PERITONITE COM SOLUÇÃO SALINA A 0,9%

O animal foi novamente posicionado em decúbito dorsal, imobilizado com fita adesiva feita antissepsia da região epilada e retirada a sutura da parede abdominal com exposição da cavidade abdominal, que foi limpa com gaze cirúrgica umedecida em solução salina a 0,9% aquecida à 37° C em aquecimento indireto, “banho maria”. Em seguida, foi feita a irrigação com a mesma solução, em jato, com seringa de cinco ml, por quatro vezes, num total de 20 ml da solução também aquecida à 37°C em aquecimento indireto, “banho maria”. Então, procedeu-se a secagem da cavidade peritoneal com gaze cirúrgica, ressecção da parte necrótica do ceco,

confeção da anastomose colônica e o fechamento da parede abdominal em dois planos contínuos, sendo o primeiro com categute cromado 4-0 e o segundo com ácido poliglicólico 4-0.

5.5 TRATAMENTO DA PERITONITE COM SOLUÇÃO DE CLORHEXIDINA

O animal foi novamente posicionado em decúbito dorsal, imobilizado com fita adesiva, feita antissepsia da região epilada e retirada a sutura da parede abdominal com exposição da cavidade abdominal, que foi limpa com gaze cirúrgica umedecida em solução salina a 0,9 aquecida à 37° C em aquecimento indireto, “banho maria”. Em seguida, foi feita a irrigação de clorhexidina na concentração de 0,05%, em jato, com seringa de cinco ml, por quatro vezes, num total de 20 ml da solução também aquecida à 37° C em aquecimento indireto, “banho maria”. Então, procedeu-se a secagem da cavidade peritoneal com gaze cirúrgica, ressecção da parte necrótica do ceco, anastomose colônica e o fechamento da parede abdominal em dois planos contínuos, o primeiro com categute cromado 4-0 e o segundo com ácido poliglicólico 4-0.

5.6 REALIZAÇÃO DA ANASTOMOSE COLÔNICA

Após o tratamento da peritonite ou relaparotomia no grupo A, foi feita a identificação do cólon ascendente com secção, em seu terço médio, de 75% da circunferência, na borda antimesentérica, preservando a vascularização. A seguir foi confeccionada anastomose por sutura manual com pontos separados em plano único extramucoso invertente, utilizando o fio de poligalactina 910 5-0 montado em agulha atraumática, sendo realizado em média de seis pontos por sutura (**FIGURA 2**).

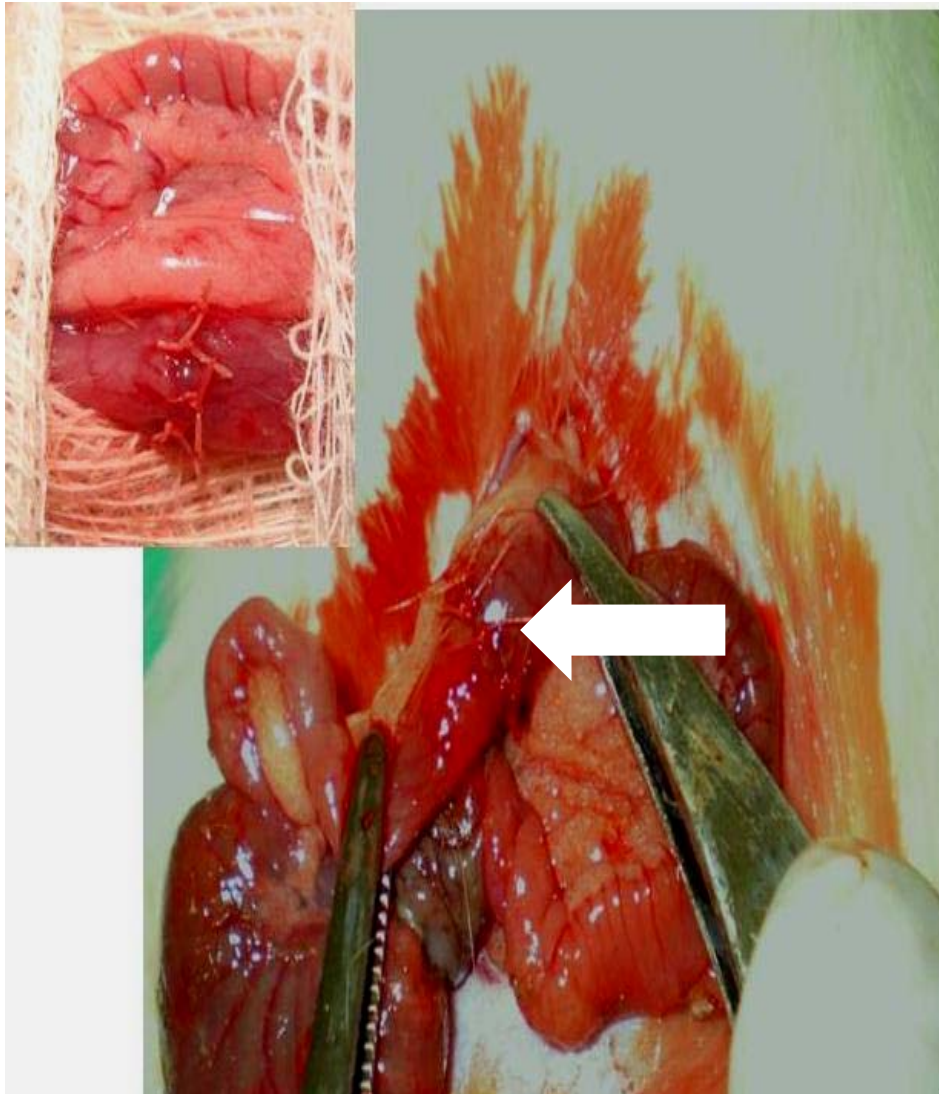


Figura 2- Anastomose no cólon direito de rato (seta). No detalhe, anastomose concluída.

5.7 COLETA DE AMOSTRAS

Após sete dias da realização das cirurgias, os animais foram mortos com superdosagem de quetamina (Cristália Prod Quim Farmac Ltda. Itapira SP): três vezes a dose utilizada para anestesia, verificava-se os sinais vitais, se presentes, aguardava-se três minutos e repetia-se a superdosagem, assim sucessivamente até a verificação da morte do animal. Após a morte dos animais, foi feita nova laparotomia, e realizada a avaliação da anastomose em três níveis: macroscópico, funcional e microscópico.

5.8 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Foram identificadas e classificadas as alterações macroscópicas na linha da anastomose colônica: presença, número, e grau das aderências (**QUADRO 1 e FIGURA 3**), e órgãos envolvidos, presença de abscessos perianastomóticos, presença de peritonite generalizada ou localizada e o número de quadrantes acometidos, presença ou ausência de fístulas em peritônio livre ou tamponadas e nesse caso quais órgãos envolvidos, presença ou ausência de dilatação de alças colônicas ou entéricas a montante da linha da anastomose (**QUADRO 2**).

Quadro 1- Classificação das aderências entre a anastomose colônica e o peritônio, ou com outras vísceras.

CLASSIFICAÇÃO	CARACTERÍSTICAS
GRAU I - FROUXA	Desprendendo facilmente à manipulação
GRAU II - FIRMES	Desprendendo facilmente à tração das estruturas
GRAU III - MUITO FIRMES	não desprendendo facilmente à tração das estruturas

Quadro construído a partir de compilado da literatura.

Quadro 2- Classificação da dilatação das alças intestinais a montante da linha da anastomose.

CLASSIFICAÇÃO	CARACTERÍSTICAS
GRAU I - POUCO DILATADA	Até uma vez o calibre normal
GRAU II - DILATADAS	Até duas vezes o calibre normal
GRAU III - MUITO DILATADAS	duas ou mais vezes o calibre normal

Quadro construído a partir de compilado da literatura.

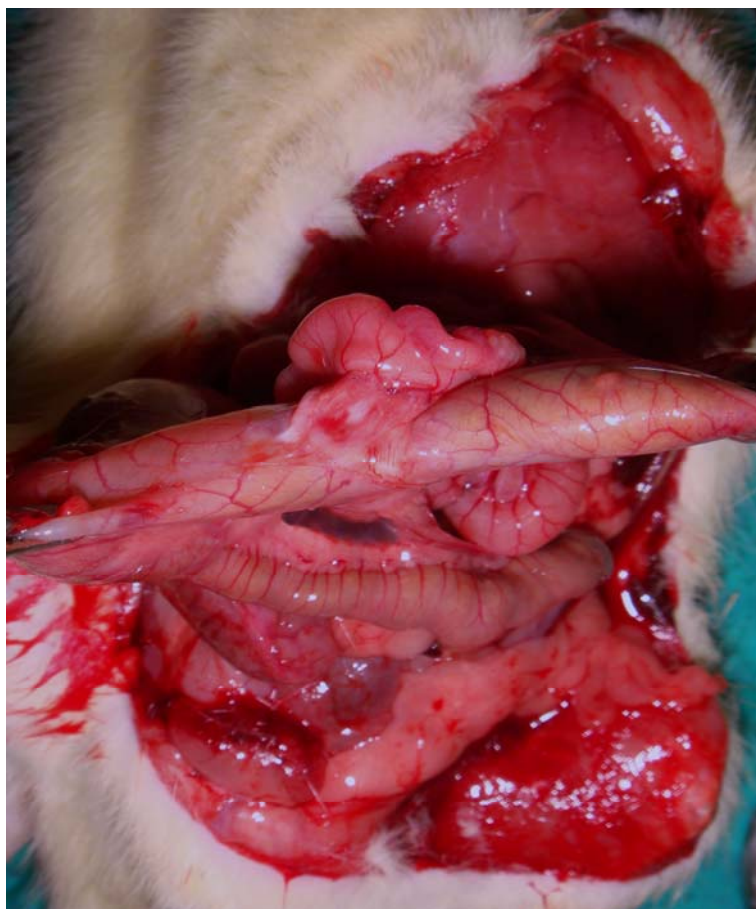


Figura 3- Aderências de alças de delgado à anastomose colônica em rato 7 dias após confecção da anastomose e após tratamento da peritonite.

5.9 AVALIAÇÃO FUNCIONAL

Depois de colhidos todos os dados para macroscopia foi feita a retirada do segmento colônico, contendo a anastomose e, eventualmente, órgãos a ela aderidos para verificação da pressão de ruptura.

O segmento colônico contendo a anastomose com margens de cólon macroscopicamente inalterado foi removido com extensão de cerca de 2 cm proximal e distal à anastomose. Esse segmento foi estudado com relação à pressão de ruptura conforme técnica padronizada em nosso meio³⁷.

A pressão de ruptura foi avaliada insulfando-se ar em uma das extremidades, sob fluxo constante, com uma pêra de borracha e válvula unidirecional, estando a peça imersa em uma cuba contendo solução salina á 0,9% e a outra extremidade ligada com fio de seda 2.0 e obstruída por uma pinça a jusante (**FIGURA 4**). O

cateter pelo qual o ar é insuflado conecta-se também a um manômetro aneróide por uma conexão em “U”, que afere a pressão exercida na anastomose. A medida da pressão de ruptura é dada pelo valor registrado no momento da ruptura da alça, verificado pela presença do borbulhamento do líquido contido na cuba.



Figura 4- Sistema para mensuração da pressão de ruptura de anastomoses intestinais.

5.10 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

Após a morte do animal foi colhido um fragmento de biópsia do peritônio parietal nos quadrantes superior esquerdo e inferior esquerdo do abdome, com pinça de endoscopia curta, 15 cm comprimento e 75 mm de abertura. Os fragmentos, com aproximadamente 50X50 mm, foram fixados em formol a 10% e, após 24 horas, realizou-se inclusão em parafina e foram obtidos cortes histológicos e corados pela hematoxilina-eosina. Nesse material foi feita avaliação histopatológica por microscopia óptica (Alphaphot-2-Nikon-Tokyo-Japan), aumento de 400x, com vistas a determinar o grau da angiogênese (ausente, leve, moderada, ou acentuada), da fibroplasia (ausente, leve, moderada, ou acentuada), a relação macrófago/fibroblasto, e também o grau de inflamação através da presença e quantificação do edema e da descamação das células mesoteliais, a presença e a

concentração de exsudato de fibrina e a formação de microabcessos. Essa avaliação foi feita em todos os casos pelo mesmo patologista o médico Daniel Gomes de Alvarenga.

Os segmentos colônicos também foram fixados em formol a 10%, a partir dos quais foram obtidos cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina. Essas lâminas foram avaliadas com relação à presença e grau do infiltrado inflamatório do peritônio parietal próximo a linha de sutura, de maneira semelhante à avaliação feita para os fragmentos de peritônio visceral, e a partir desses dados fez-se a classificação da gravidade da peritonite em graus de 0 a 9, conforme descrito no **QUADRO 3**.

Quadro 3- Parâmetros histológicos de classificação da gravidade da peritonite.

	<i>0 PONTO</i>	<i>1 PONTO</i>	<i>2 PONTOS</i>	<i>3 PONTOS</i>
EXUDATO DE FIBRINA	ausente	Presente em até 5 campos	Presente de 6 a 10 campos	Presente em 11 ou mais campos
EDEMA DE CÉLULAS MESOTELIAIS	ausente	Presente em até 5 campos	Presente de 6 a 10 campos	Presente em 11 ou mais campos
MICRO-ABCESSOS	ausente	Presente em até 5 campos	Presente de 6 a 10 campos	Presente em 11 ou mais campos

Quadro construído a partir de compilado da literatura.

5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da macroscopia e da histologia foram comparados, entre os grupos através do teste do Qui-Quadrado, com correção de Yates, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$. Os valores do número de aderências, da pressão de ruptura das anastomoses colônicas, da severidade da peritonite e a relação macrófago/fibroblasto foram comparados entre os grupos através do teste de Kruskal-Wallis, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA

Todos os animais do grupo A sobreviveram até o sétimo dia de observação, no grupo B, sobrevivência de 87,5% e no grupo C 75%, sem diferença entre os grupos ($p = 0,27$). Nenhum animal morreu antes do tratamento da peritonite. As duas mortes no grupo C e uma do B ocorreram nas seis horas subseqüentes ao tratamento cirúrgico da sepses o que pode ser atribuído à evolução natural da doença.

6.2 ANASTOMOSE INTESTINAL

6.2.1 Macroscopia (TABELA 1)

Após a morte, no 7º DPO, nenhum animal apresentou sinal de macroscópico de peritonite residual ou abscesso intracavitário. Na análise macroscópica da anastomose colônica do presente estudo, houve observação de aderências em seis animais do grupo A (75%), em sete do grupo B (100%) e seis do grupo C (100%), porém não foi observada diferença significativa entre os grupos.

A média do número de aderências no grupo A foi de $1,6 \pm 0,9$ (mediana de 1, variando entre 1 e 3); no grupo B, houve $1,1 \pm 0,4$ aderências (mediana de 1, variando de a 2); no grupo C foram $1,8 \pm 0,8$ aderências (mediana de 1, variando de 1 a 3), sem diferença significativa entre os grupos.

No grupo A (controle), as aderências foram frouxas em 50% dos animais, firmes em 33% e muito firmes em 16,7%. Já no grupo B (solução salina) as aderências foram frouxas em 14,3% dos casos e firmes em 85,7%. No grupo C (clorhexidina) as aderências foram firmes em 100% dos casos. Houve maior incidência de aderências frouxas no grupo sem peritonite quando comparado aos grupos com peritonite, independente do tratamento empregado ($p=0,04$) (**FIGURA 5**).

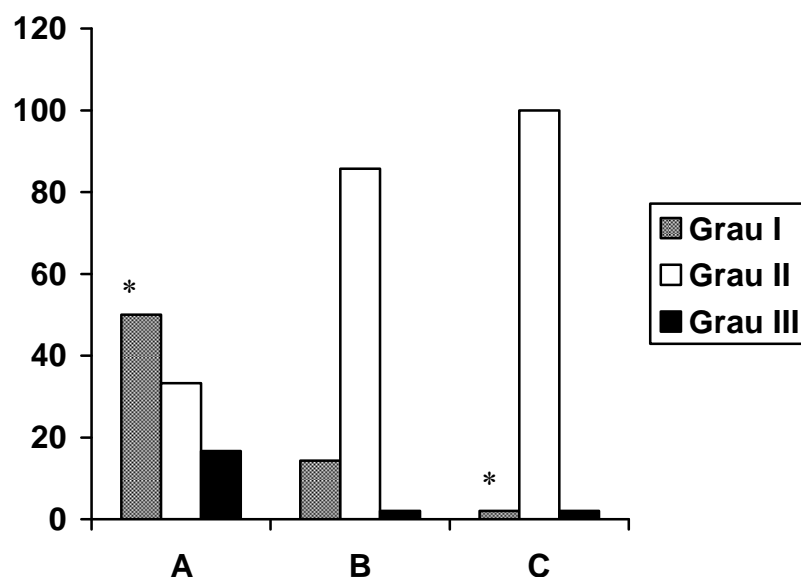


Figura 5- Intensidade das aderências perianastomóticas em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina).
* $p=0,04$.

Os órgãos mais freqüentemente aderidos à anastomose foram, no grupo A, o intestino delgado e omento (33,3%), intestino delgado e ceco (16,7%), e intestino delgado e omento (16,7%). No grupo B as aderências ocorreram mais freqüentemente com o intestino delgado (57,1%) e com o omento (42,9%). No grupo C, as aderências foram mais comuns com o intestino delgado (33,3%), intestino delgado e ceco (33,3%), seguido do omento (16,7%) e, em 16,7%, intestino delgado e omento.

Foram identificadas fístulas tamponadas em apenas dois animais do estudo, um do grupo A (12,3%) e outro do grupo B (14,3%), sem diferença significativa entre os grupos. Dilatação de alças à montante da anastomose foi vista em quatro ratos do grupo A (50%), quatro do grupo B (57,2%) e quatro do grupo C (66,7%), sem diferença entre os grupos. O grau dessa dilatação foi leve em 100% (4) dos animais do grupo A; no grupo B, essa dilatação foi considerada leve em 50% (2) dos casos, moderada em 25% (1) e acentuada nos outros 25% (1). No grupo C, a dilatação foi moderada em 50% (2) dos animais e acentuada nos outros 50% (2). Nas dilatações grau I, houve diferença significativa quando comparados os animais do grupo A (4 casos - 100%) e aqueles do grupo C (nenhum caso, $p=0,04$). Não houve diferença

(p=0,6) do grupo controle (A) em relação ao grupo B, com dois casos (50%) (FIGURA 6).

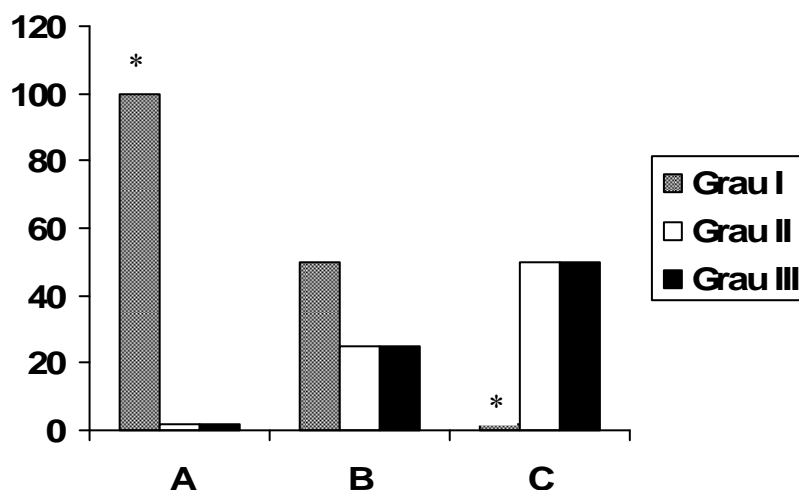


Figura 6- Intensidade da distensão de alças a montante da anastomose em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina). * P = 0,04

Tabela 1- Resultados da inspeção macroscópica da cavidade peritoneal e da anastomose do cólon de 21 ratos sem peritonite (Grupo A) ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B) ou com solução de clorhexidina (Grupo C).

PARÂMETRO AVALIADO	GRUPO A (n=8)	GRUPO B (n=7)	GRUPO C (n=6)	p	
Aderências	Presença	6 (75,0%)	7 (100,0%)	6 (100,0%)	N.S.
	Número	1,6 ± 0,9	1,1 ± 0,4	1,8 ± 0,8	N.S.
	Grau I	3 (50,0%)	1 (14,3%)	0 (0,0%)	N.S.
	Grau II	2 (33,3%)*	6 (85,7%)	6 (100,0%)*	* 0,04
	Grau III	1 (16,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	N.S.
Fístula	1 (12,5%)	1 (14,3%)	0 (0,0%)	N.S.	
Dilatação de alças	Presença	4 (50,0%)	4 (57,2%)	4 (66,7%)	N.S.
	Grau I	4 (100,0%)*	2 (50,0%)	0 (0,0%)*	*0,04
	Grau II	0 (0,0%)	1 (25,0%)	2 (50,0%)	N.S.
	Grau III	0 (0,0%)	1 (25,0%)	2 (50,0%)	N.S.

6.2.2 Microscopia

6.2.2.1 Microscopia do peritônio visceral (Tabela 2)

À microscopia óptica de fragmentos do peritônio visceral obtidos do cólon direito, observou-se no grupo A angiogênese moderada em três (37,5%) e intensa em cinco (62,5%) animais, no grupo B foi moderada em dois (28,6%) e intensa em cinco animais (71,4%); e no grupo C, observou-se intensidade leve em dois, moderada em dois e intensa também em dois animais (33,3% em cada). A fibroplasia no grupo A foi moderada em seis animais (75%) e intensa em dois (25%); no grupo B moderada em quatro (57,1%) e intensa em três (42,9%); e no grupo C foi leve em um (16,7%), moderada em quatro (66,6%) e intensa em outro animal (16,7%).

A relação macrófago fibroblasto (M/F) foi no grupo A, de $0,9 \pm 0,5$, no grupo B $1,1 \pm 0,6$, e no grupo C $0,5 \pm 0,3$ com diferença significativa entre aqueles animais com peritonite tratados com solução salina ou com clorhexidina ($p = 0,02$) (FIGURA 7).

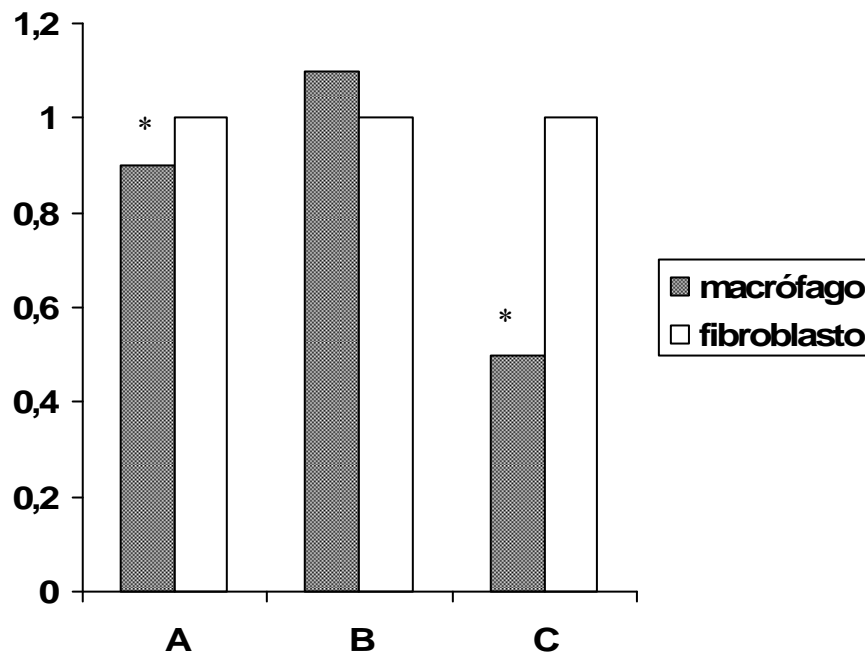


Figura 7- Relação macrófago fibroblasto (M/F) à microscopia óptica (aumento de 400X) do peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina)* P = 0,02.

No grupo A, o edema de células mesoteliais foi observado com intensidade moderada em quatro animais (50%) e intensa também em quatro animais (50%); no grupo B, leve em um (14,3%), moderada em dois (28,6%) e intensa em quatro animais (57,1%); no grupo C foi leve em dois (33,3%) e moderada em quatro (66,7%) não havendo nenhum animal com edema de células mesoteliais intenso nesse grupo. Houve menos edema de células mesoteliais intenso nos animais do grupo C, quando comparados aos grupos A ($p = 0,05$) e B ($p = 0,07$) como observado na **FIGURA 8**.

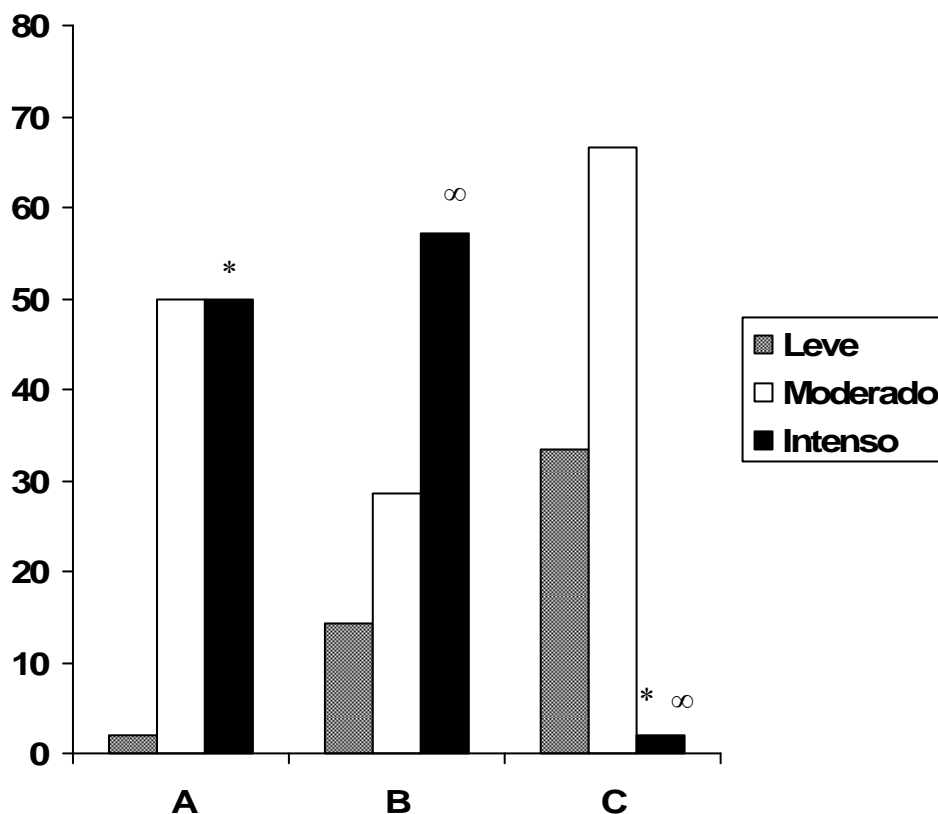


Figura 8- Intensidade do edema de células mesoteliais, à microscopia óptica (aumento de 400X), do peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina). * $p = 0,05$; $\infty p = 0,07$.

A presença de exsudato de fibrina leve foi verificada no grupo A em sete animais correspondendo a 87,5% destes, sendo diferente dos grupos B e C, nos quais não se observou presença de exsudato de fibrina leve ($p = 0,001$ e $0,004$ respectivamente) (**FIGURA 9**).

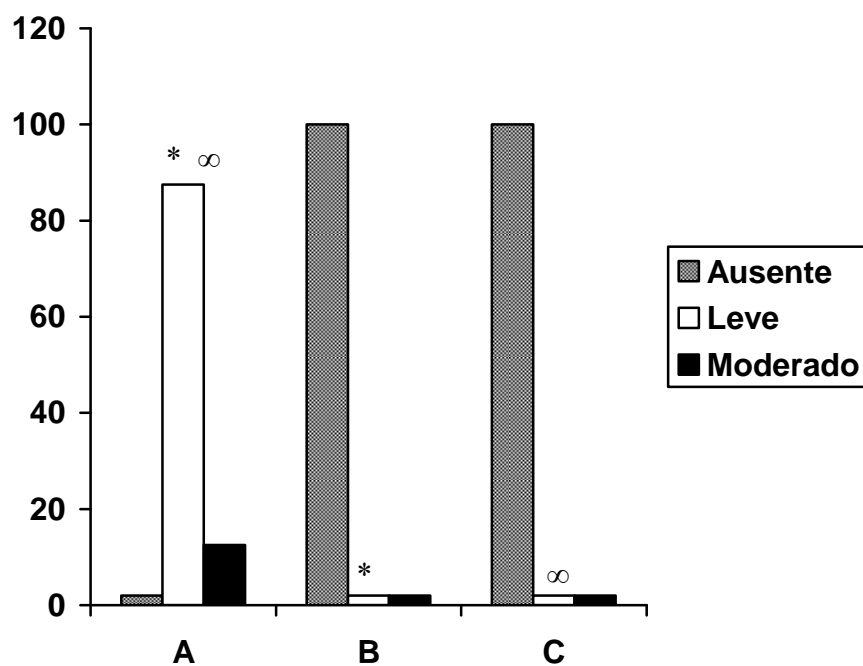


Figura 9- Intensidade de exsudato de fibrina, à microscopia óptica (aumento de 400X), no peritônio visceral em 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina). $p = *0,001$ e $p = \infty 0,004$ respectivamente.

Os microabscessos foram observados em quatro amostras (50%) do grupo A, quatro (57,1%) do grupo B e quatro (66,6%) do grupo C, sem diferença significativa.

Tabela 2- Resultados da avaliação microscópica do peritônio visceral de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).

PARÂMETRO		GRUPO A (n=8)		GRUPO B (n=7)		GRUPO C (n=6)		P
AVALIADO								
Angiogênese	Ausente	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Leve	0	(0)	0	(0)	2	(33,3%)	N.S.
	Moderada	3	(37,5%)	2	(28,6%)	2	(33,3%)	N.S.
	Acentuada	5	(62,5%)	5	(71,4%)	2	(33,3%)	N.S.
Fibroplasia	Ausente	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Leve	0	(0)	0	(0)	1	(16,7%)	N.S.
	Moderada	6	(75%)	4	(57,1%)	4	(66,6%)	N.S.
	Acentuada	2	(25%)	3	(42,9%)	1	(16,7%)	N.S.
Edema de células mesoteliais	Ausente	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Leve	0	(0)	1	(14,3%)	2	(33,3%)	N.S.
	Moderado	4	(50%)	2	(28,6%)	4	(66,7%)	N.S.
	Acentuado	4	(50%) *	4	(57,1%) Ω	0	(0) * Ω	* 0,05 Ω 0,07
Exsudato fibrinoso	Ausente	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Leve	7	(87,5%)*	0	(0) Ω	0	(0)* Ω	* 0,01 Ω 0,04
	Moderado	1	(12,5%)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Acentuado	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
Microabscesso	Ausente	4	(50%)	3	(42,9%)	2	(33,3%)	N.S.
	Leve	4	(50%)	4	(57,1%)	4	(66,6%)	N.S.
	Moderado	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
	Acentuado	0	(0)	0	(0)	0	(0)	N.S.
Relação macrófago / Fibroblasto	—	0,9 ± 0,5*	1,1 ± 0,6	0,5 ± 0,3*				* 0,02

6.2.2.2 Microscopia do peritônio parietal superior (TABELA 3)

A histologia dos fragmentos do peritônio parietal obtidos do abdome superior mostrou no grupo A, angiogênese leve em todos os oito animais (100%). No grupo B, a angiogênese foi leve em três casos (42,9%) e moderada em quatro animais (57,1%); no grupo C, angiogênese leve em dois (33,3%), moderada em três (50,0%) e intensa em um animal (16,7%). Quanto à fibroplasia, foi leve em dois (25%) e moderado em seis animais (75%) do grupo A. No grupo B, foi leve em um (14,3%), moderado em cinco (71,4%), e intenso em um (14,3%). No grupo C foi leve em um (16,7%) e moderado em cinco (83,3%) casos. A relação macrófago/fibroblasto no grupo A foi de $0,50 \pm 0,0$, no grupo B $0,50 \pm 0,30$ e no grupo C com $0,70 \pm 0,30$, sem diferença entre os grupos. Edema de células mesoteliais não foi observado em nenhum animal dos três grupos estudados ($p = n.s.$), bem como o exsudato de fibrina que também não foi observado nos três grupos estudados ($p = n.s.$). Microabscessos estavam ausentes na totalidade dos exames dos grupos A, B e C ($p = n.s.$).

Tabela 3- Resultados da avaliação microscópica do peritônio parietal superior de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).

PARÂMETRO AVALIADO		GRUPO A (n=8)	GRUPO B (n=7)	GRUPO C (n=6)	P
Angiogênese	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	8 (100%)	1 (14,3%)	1 (16,7%)	N.S.
	Moderada	0 (0)	5 (71,4%)	5 (83,3%)	N.S.
	Acentuada	0 (0)	1 (14,3%)	0 (0)	N.S.
Fibroplasia	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	2 (25%)	0 (0)	1 (16,7%)	N.S.
	Moderada	6 (75%)	4 (57,1%)	4 (66,6%)	N.S.
	Acentuada	0 (0)	3 (42,9%)	1 (16,7%)	N.S.
Edema de células endoteliais	Ausente	8 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	N.S.
	Leve	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Acentuado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Exsudato fibrinoso	Ausente	8 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	N.S.
	Leve	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Acentuado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Microabscesso	Ausente	8 (100%)	7 (100%)	6 (100%)	N.S.
	Leve	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Acentuado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Relação macrófago/fibroblasto	—	0,50 ± 0,0	0,50 ± 0,30	0,70 ± 0,30	N.S.

6.2.2.3 Microscopia do peritônio parietal inferior (TABELA 4)

A avaliação histológica dos fragmentos de peritônio parietal obtidos do abdome inferior mostrou no grupo controle (A), angiogênese leve em todos os oito (100%) animais. No grupo tratado com solução salina (B) a angiogênese foi avaliada como leve em três (42,9%) animais e moderada em quatro (57,1%); e no grupo tratado com clorhexidina (C) foi leve em cinco (83,3%) e moderada em um (16,7%). A fibroplasia foi leve em cinco (62,5%) e moderada em três (37,5%) animais do grupo A. No grupo B foi leve em um (14,3%), moderada em cinco (71,4%) e intensa em um (14,3%); no grupo C, foi moderada em três (50%) e intensa também em três (50%) casos. A relação macrófago/fibroblasto foi, no grupo A, $0,50 \pm 0,0$; no grupo B foram $0,50 \pm 0,20$ e, no grupo C, $0,40 \pm 0,30$. Houve redução dessa relação quando comparados os animais do grupo C (clorhexidina) e aqueles do grupo controle ($p = 0,06$). A intensidade do edema das células mesoteliais foi no grupo A leve em sete (87,5%) e intenso em um (12,5%) animal. No grupo B foi leve em cinco (71,4%) e moderada em dois (28,6%); e no grupo C foi leve em dois (33,3%), moderada em três (50,0%) e intensa em apenas um (16,7%) animal, com diferença entre os grupos. Observou-se exsudato fibrinoso leve em sete (87,5%) e moderado em um (12,5%) animal do grupo A, e nos outros grupos foi leve em todos os animais. Os microabscessos estavam ausentes em sete (87,5%) e presente em um (12,5%) animal do grupo A, estando ausentes na totalidade de casos dos grupos B e C.

Tabela 4- Resultados da avaliação microscópica do peritônio parietal inferior de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).

PARÂMETRO AVALIADO		GRUPO A (n=8)	GRUPO B (n=7)	GRUPO C (n=6)	P
Angiogênese	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	8 (100%)	3 (42,9%)	5 (83,3%)	N.S.
	Moderada	0 (0)	4 (57,1%)	1 (16,7%)	N.S.
	Acentuada	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Fibroplasia	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	5 (62,5%)	1 (14,3%)	3 (50%)	N.S.
	Moderada	3 (37,5%)	5 (71,4%)	3 (50%)	N.S.
	Intensa	0 (0)	1 (14,3%)	0 (0)	N.S.
Edema de células endoteliais	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	7 (87,5%)	5 (71,4%)	2 (33,3%)	N.S.
	Moderado	0 (0)	2 (28,6%)	3 (50%)	N.S.
	Acentuado	1 (12,5%)	0 (0)	1 (16,7%)	N.S.
Exsudato fibrinoso	Ausente	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	7 (87,5%)	7 (100%)	6 (100%)	N.S.
	Moderado	1 (12,5%)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Acentuado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Microabscesso	Ausente	1 (12,5%)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Leve	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
	Acentuado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N.S.
Rel. macrófago /fibroblasto	—	0,50 ± 0,0*	0,50 ± 0,20	0,40 ± 0,30*	* 0,06

6.3 GRAVIDADE DA PERITONITE

A média da inflamação peritoneal foi $2,75 \pm 1,03$ no grupo A, $2,43 \pm 1,13$ no grupo B e $0,83 \pm 0,75$ no grupo C. Houve diferença significativa quando comparada à magnitude da resposta inflamatória, que foi menor no grupo clorhexidina (C) quando comparado com os animais dos grupos controle (A) e irrigação com solução salina (B, $p = 0,01$) como observado na **FIGURA 10**.

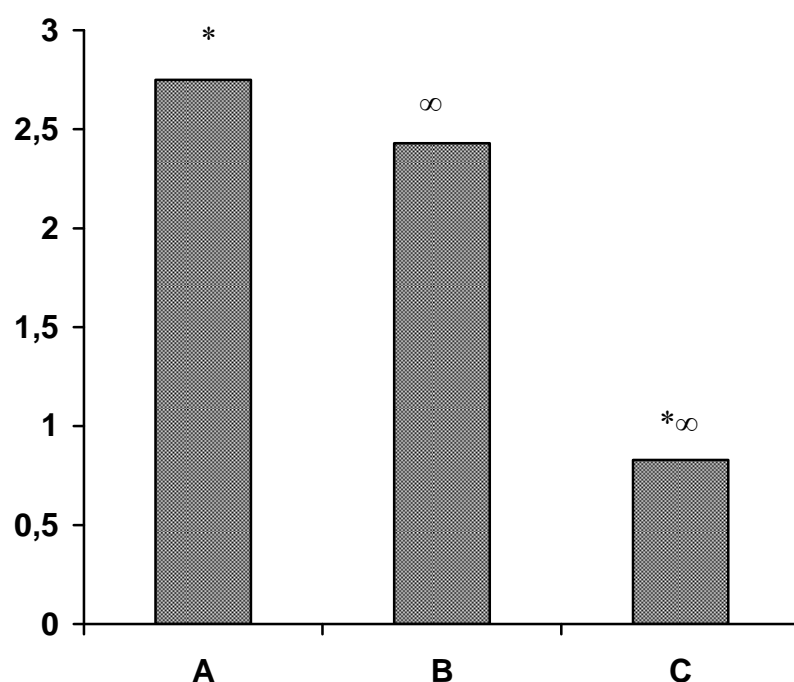


Figura 10 – Gravidade da peritonite de 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina). (* $p = 0,01$, ∞ $p = 0,01$)

6.4 PRESSÃO DE RUPTURA

A pressão de ruptura das anastomoses colônicas foi de $196,3 \pm 49,8$ grupo A (controle), $208,6 \pm 72,7$ no grupo B (limpeza com solução salina) e $156,7 \pm 53,2$ no grupo C (limpeza com solução de clorhexidina). Houve redução da pressão de ruptura nos animais do grupo C quando comparados àqueles do grupo B ($p = 0,06$, figura 10). As medianas, valores mínimos e máximos das pressões de ruptura estão listados no quadro abaixo (**TABELA 5**).

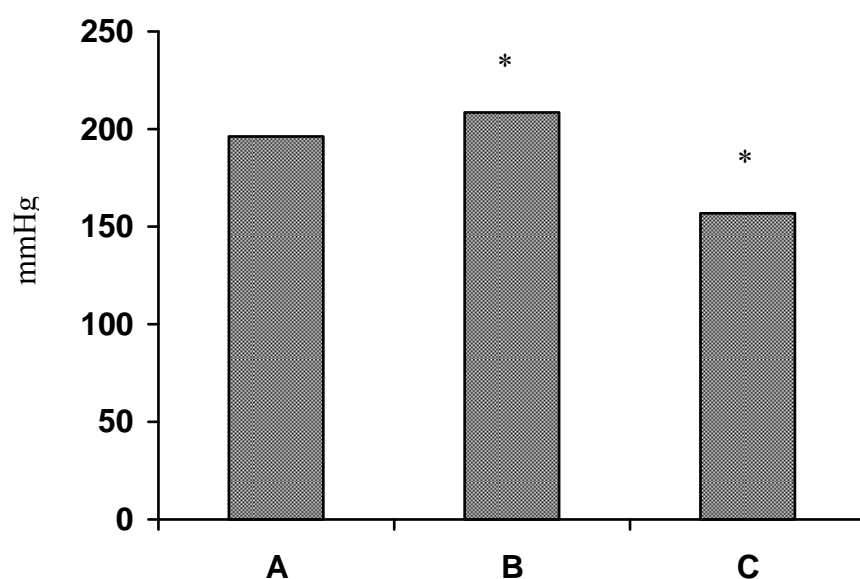


Figura 11- Pressão de ruptura das anastomoses de 21 animais distribuídos nos grupos A (sem peritonite), B (limpeza com solução salina) e C (limpeza com solução de clorhexidina, * P = 0,06).

Tabela 5- Mediana, valores mínimos e máximos das pressões de ruptura, em milímetros de mercúrio (mmHg) das anastomoses colônicas de 21 ratos sem peritonite (Grupo A), ou com peritonite induzida e tratados com irrigação da cavidade peritoneal com solução salina (Grupo B), ou com solução de Clorhexidina (Grupo C).

	Mediana	Mínimo	Máximo
GRUPO A	215	100	240
GRUPO B	220	60	280
GRUPO C	155,1	80	220

Nota: gráficos das seções 6.2 expressam no eixo “Y” percentuais e na seção 6.3 valor absoluto.

7. DISCUSSÃO

A peritonite é uma afecção que cursa com elevados índices de mortalidade. A conduta operatória após perfuração de víscera oca e a infecção que se segue ainda tem pontos controversos, e em situações como perfuração por doença inflamatória, câncer ou trauma extenso, a ressecção com anastomose pode ser necessária. A presença de fatores como peritonite generalizada, edema de alça, alterações patológicas ou anatômicas da alça, isquemia, senilidade e/ou comorbidades prejudicam a cicatrização e aumentam o risco de fístula, todavia, não contra-indicam a anastomose primária.¹⁰ Para sustentar a conduta de realizar a anastomose em presença de peritonite, estudos em seres humanos e em modelos experimentais, têm sido úteis para aumentar o conhecimento sobre eventos que envolvem a cicatrização das alças intestinais em condições adversas. A evolução desse conhecimento está modificando a conduta de cirurgiões gerais e especialistas, em relação à opção de realizar uma anastomose primária do cólon em situações clínicas limítrofe ou críticas, como observado em um levantamento realizado no Reino Unido.¹ Conard *et al* (2000) afirma que a anastomose primária deve ser realizada em casos de trauma do cólon, mesmo em presença de peritonite difusa, considerando o custo do tratamento e a qualidade de vida no pós-operatório, embora, continue a ser assunto controverso⁵⁹. Assim, justifica-se a realização de estudos que investiguem a cicatrização em condições adversas, como em vigência de peritonite, também avaliem fatores capazes de aumentar a segurança das anastomoses realizadas nessas condições.

Para estudo experimental da sepse abdominal têm-se induzido essa condição com deposição intraperitoneal de fezes com ou sem adjuvantes; inoculação de microorganismos com cepas e quantidade definidas com ou sem adjuvantes, ou através da confecção de uma fonte endógena de contaminação fecal, promovendo-se uma solução de continuidade no intestino do animal. Neste último, são bem estabelecidos a ligadura e punção do ceco (LPC) e a aplicação de prótese tubular no cólon ascendente⁶⁰. O modelo de peritonite experimental mais amplamente difundido e considerado como padrão ouro⁶¹ é a LPC que foi descrita por de Wichterman *et al* (1980)⁶². Esse modelo resulta em choque séptico e morte do animal em 24 a 48

horas após a indução da peritonite na ausência de tratamento. Além disso, promove infecção polimicrobiana associada à septicemia, bacteremia e alterações hemodinâmicas caracterizadas por uma fase hiperdinâmica precoce e hipodinâmica tardia semelhante às observadas na prática clínica. Todavia, a quantificação precisa do agravo continua representando um desafio, e isso, criaria alguma dificuldade para se reproduzir o procedimento em um grande número de animais⁶³. Além disto, como foi descrito, a LPC não prevê reposição volêmica nem o emprego de antimicrobianos, o que aumenta mortalidade e promove falta de correlação entre o modelo e a realidade clínica. Por outro lado, a utilização da LPC permite prever com relativa segurança o índice de mortalidade e o tempo de sobrevivência dos animais, pode ser modulada pelo calibre da agulha usada para punção, bem como pelo número de punções⁶⁴. A utilização de um molde plástico de 3 mm de diâmetro para realização da LPC, buscando uniformização do dano nesse modelo, foi sugerida por Salgado Jr. *et al* (2001)⁶⁵. A utilização de um dispositivo de ligadura elástica para realização da LPC foi descrita, com o intuito de facilitar o procedimento e também padronizar o tamanho da bolsa cecal⁶⁶, reduzindo as discrepâncias relatadas na literatura⁶³, equiparando a agressão dentro do experimento e permitindo sua reprodução confiável.

A escolha do modelo experimental de peritonite é muito importante para o sucesso e aplicabilidade clínica do estudo proposto, e interfere na avaliação da medida terapêutica em estudo, que deve ser um método adjuvante à terapia padrão. O modelo ideal de indução de peritonite deve ser simples, tecnicamente fácil de aprender e executar, reproduzível em grande número de animais e proporcionar resultados confiáveis, ou seja, índices de mortalidades previsíveis e consistentes, além de apresentar boa padronização, ser econômico e ético. Infelizmente, não existe um modelo com todas essas características, e dentre os modelos mais estudados, a LPC tem sido escolhida por vários pesquisadores para avaliar a cicatrização de anastomoses intestinais^{9,12,30}.

Os estudos com pequenos animais são os mais frequentemente utilizados, pois as características dessas espécies proporcionam custo relativamente baixo com aquisição, acomodação e manutenção⁶⁷. Além disso, pode-se dispor de grande número de indivíduos geneticamente semelhantes com certa facilidade, rapidez, e a custo acessível. Outra vantagem é a existência, em escala comercial, de reagentes para análises bioquímicas, laboratórios com boa padronização da citometria e

morfometria, sondas biológicas para detecção de estruturas celulares e moleculares, bem como número crescente de animais com modificações genéticas específicas permitindo o estudo de situações clínicas particulares^{68,69}. Por outro lado, pequenos roedores são relativamente resistentes a endotoxinas, possuem perfil hemodinâmico diferente da espécie humana e um volume circulante pequeno, o que prejudica análises séricas repetidas. A reduzida dimensão dos animais também limita algumas terapias, que são rotineiramente utilizadas na unidade de cuidados intensivos em seres humanos em estado crítico. O tamanho dos animais também dificulta algumas aferições importantes para avaliação da evolução clínica⁷⁰.

Neste estudo utilizou-se ratos Wistar e a sepse foi induzida pela LPC com um dispositivo de ligadura elástica para a ligadura do ceco. Todos os animais submetidos ao procedimento desenvolveram sinais macroscópicos de peritonite, evidenciados pela presença de líquido peritoneal seroso após duas horas, semelhante a outros resultados observados por Hanly *et al* (2003), que relata a ocorrência de líquido peritoneal turvo, compatível com peritonite, 24 horas depois dos animais serem submetidos a LPC por via laparoscópica⁷¹.

O ponto central do tratamento da peritonite secundária é o controle do foco infeccioso¹⁴. Devido ao grande número de pacientes, à gravidade da apresentação, e aos resultados, nem sempre favoráveis, obtidos com os métodos de tratamento disponíveis existe necessidade constante de aprimorar o conhecimento sobre o assunto e realizar pesquisas que busquem melhorar o prognóstico de pacientes nessas condições. Preconiza-se a limpeza da cavidade abdominal pela aspiração de todo o líquido turvo, seguida da remoção, com compressas cirúrgicas, de material necrótico, sangue e fibrina, além, do material responsável pela contaminação grosseira como biliar, fezes ou conteúdo gastrointestinal^{2,52}. Discutem-se os benefícios da irrigação da cavidade peritoneal com solução cristalóide ou outras soluções, pois não tem sido observada redução nos índices de mortalidade e na incidência de complicações quando comparada ao uso de antibioticoterapia sistêmica isoladamente¹³. Considera-se também o risco, pelo menos teórico, da irrigação da cavidade peritoneal estimular a disseminação de microrganismos para outras regiões do abdome e aumentar a absorção sistêmica desses via ducto torácico, além, de diluir de fatores quimiotáticos secretados por células mesoteliais reduzindo a capacidade de migração de neutrófilos³⁹. Além disso, na presença de interface líquida sobre o peritônio, os macrófagos locais desprendem-se da

superfície serosa e ficam “flutuando”, o que dificulta a fagocitose e a migração⁴¹. Por outro lado, a simples aspiração associada ao uso de compressas cirúrgicas poderia ser insuficiente para evitar complicações infecciosas⁷².

A utilização clínica da irrigação peritoneal foi descrita em 1905, e pouco tempo depois, em 1910, já era condenada por alguns cirurgiões, o que mostra que desde o início o emprego dessa prática é motivo de controvérsias. Na década de 1960, vários pesquisadores se dedicaram a demonstrar cientificamente o valor da irrigação da cavidade peritoneal com solução salina com ou sem antimicrobianos. Dez anos mais tarde, com o surgimento de cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos se propôs a irrigação da cavidade abdominal por drenos, lavagem peritoneal fechada e o uso de antissépticos. Em seguida, também defendendo a proposição que uma exaustiva retirada de contaminantes da cavidade abdominal seria benéfica, sugere-se a lavagem da cavidade com grandes volumes de solução fisiológica entre outras medidas de controle local da infecção, contudo, sem se estabelecer uma regra de conduta. A inexistência de estudos bem delineados sobre o tema mostra a dificuldade de se defender à utilização sistemática da irrigação peritoneal^{17,19,73,74}. Alguns estudos experimentais sugerem efeitos deletérios dessa prática^{39,21}, embora, outros justifiquem seu emprego^{25,26,51}. Dentre os efeitos deletérios poderiam ocorrer a inibição da fagocitose pelos macrófagos peritoneais e a diluição das opsoninas, promovendo redução da fagocitose pelos polimorfonucleares^{40,38}. Nesse experimento estudou-se a irrigação peritoneal com clorhexidina, um antisséptico guanidínico de amplo espectro. Observa-se que essa substância é ativa contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos, e alguns vírus, e se mantém ativa por 5 a 6 horas mesmo na presença de substâncias orgânicas como sangue e/ou pus⁵⁵, além de possuir baixa toxicidade na concentração de 0,05%, considerada terapêutica, tanto em modelos animais^{20,22,26,31}, como em seres humanos³². Verificou-se ainda que esta substância é atóxica, acessível, de baixo custo, e altamente potente, mesmo quando aplicada por curto período de tempo e em baixa concentração³³. Em contrapartida, estaria associada ao aumento de aderências peritoneais³¹.

A partir dessas observações, utilizou-se, nesse estudo, a solução de clorhexidina a 0,05% como antisséptico para irrigação peritoneal comparando-a com solução fisiológica, considerada padrão ouro. Os estudos na literatura com o uso da clorhexidina para irrigação da cavidade abdominal avaliaram a mortalidade, a

redução na contagem de bactérias no efluente abdominal e aderências abdominais como marcadores de controle de infecção^{20,22,26,31}. Entretanto, outros dados como redução da resposta inflamatória e melhora dos parâmetros hemodinâmicos não foram avaliados.

Apesar dos números desse estudo não mostrarem diferença significativa na mortalidade entre os grupos tratados com solução salina ou clorhexidina são conflitantes com o estudo de Sortini *et al.*³⁴ (2006) que observou aumento da mortalidade associada ao uso de antissépticos no líquido de irrigação, resultado divergente daquele visto por outros Bondar *et al.*²⁶ (2000), que associou a redução da mortalidade por peritonite em camundongos, à redução da população bacteriana no efluente peritoneal. Após tratamento com clorhexidina o que se observou à microscopia do peritônio visceral foi uma menor resposta inflamatória com menos edema das células mesoteliais, relacionado ao menor índice de gravidade da peritonite observado neste grupo. Portanto, aparentemente, o uso do clorhexidina promoveria um controle mais eficaz da inflamação peritoneal do que a solução salina, o que estaria relacionado à menor mortalidade, como descrito por Bondar *et al.*²⁶ (2000).

Não se verificou, nesse estudo, diferença significativa na incidência de aderências nos animais tratados com clorhexidina quando comparados àqueles sem peritonite ou aqueles tratados somente com solução salina, resultados semelhantes àqueles já observados³⁴, porém diferentes daqueles relatados por Malekas *et al.*³¹ (2004). Um viés que pode ter havido nesse estudo é o critério subjetivo da avaliação tanto da presença quanto da intensidade das aderências. Entretanto, outros métodos de estudo dessas aderências também esbarram nesse viés, pois todos são examinador-dependentes. As discrepâncias no resultado podem se dever também às diferenças no método de indução da peritonite. Supõe-se que um controle mais efetivo da contaminação na cavidade peritoneal com menor formação de biofilme e reação inflamatória menos exuberante contribuiriam para reduzir a formação de fibrina e, conseqüentemente, de aderências peritoneais. Entretanto, tal fato não foi observado no grupo tratado com clorhexidina nem no grupo tratado com salina ou no grupo controle sem peritonite. Como se observa em roedores, resposta inflamatória mais exuberante e eficaz, o resultado visto nesse estudo e em outros pode estar mais relacionado ao modelo experimental utilizado. Entretanto, quando se avaliou o grau dessas aderências, o que se observa é que no grupo tratado com clorhexidina

elas foram constituídas por um tecido bem mais organizado, formando aderências firmes mais precocemente. Isso parece apontar para o fato de que, em períodos de estudo mais tardios, esse grupo talvez apresente aderências em uma frequência maior do que o observado em animais tratados com solução salina.

A presença de peritonite tem sido associada a alterações no processo de cicatrização da anastomose^{9,53}. Nessa sequência de eventos celulares e bioquímicos que resultam na recuperação da integridade após uma agressão, a inflamação é fator determinante e ocorre naturalmente a partir do momento da lesão⁵⁶. Mas se esse processo é exagerado, a cicatrização das anastomoses é prejudicada devido ao aumento da destruição do colágeno e redução da sua produção⁹. Isso ocorre como resultado de uma produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias e quimiotáxicos próximo da área da anastomose, tanto por ativação de neutrófilos circulantes induzida pela sepse, quanto pelo próprio processo de cicatrização da anastomose que também é regulado pelos mesmos mediadores. Portanto, essa área é crítica, pois acumulam duas fontes de substâncias inflamatórias e seus produtos, como enzimas proteolíticas, radicais livres de oxigênio, neutrófilos ativados, leucócitos circulantes e oxidases, aumentando a colagenólise, reduzindo a biossíntese protéica e, conseqüentemente, prejudicando o reparo da alça suturada¹⁰. Ocorre que no mecanismo de cicatrização tecidual a resposta inflamatória tem papel central na modulação da dinâmica responsável pela síntese do colágeno, que, em última análise, será a responsável por fornecer força tênsil à cicatriz^{40,56,57}. Apesar de, nesse estudo, avaliar-se o período em que o final da fase inflamatória se superpõe à etapa inicial da fibroplasia, ou seja, sem a organização da fibrose em feixes mais rígidos, esta seria a fase na qual, clinicamente, há maior incidência de fístulas no período pós-operatório. Quando observada a resposta cicatricial no grupo com peritonite tratado com clorhexidina e o grupo tratado com solução salina, a angiogênese esteve, no primeiro grupo, menos intensa, bem como a fibroplasia e a relação entre macrófagos e fibroblastos, resultado semelhante àquele observado ao se comparar o grupo controle (sem peritonite) e o grupo tratado com clorhexidina. É notável também que, acompanhando a tendência de resposta inflamatória mais leve vista à histologia nos animais tratados com clorhexidina, tenha-se observado também menor pressão de ruptura nas alças colônicas desses animais. Esse dado, de certa forma, colocaria sob discussão a indicação de irrigação da cavidade peritoneal com clorhexidina se

houvesse a proposta de realização de uma anastomose primária, mesmo que, nesse estudo, não tenha sido observado aumento significativo na incidência de fístulas nesse grupo.

Baseado nos resultados desse estudo, portanto, na peritonite bacteriana secundária experimental a irrigação da cavidade peritoneal com clorhexidina parece ser eficaz no controle da infecção peritoneal, o que pode ter reflexos positivos na redução da mortalidade, mas teria um efeito adverso na cicatrização de alças intestinais, reduzindo a pressão de ruptura, talvez por interferência na ação dos macrófagos na linha de sutura e inibição de uma inflamação adequada com ativação dessas células na fase inicial da cicatrização tecidual. Como até o momento não está estabelecido o provável benefício da utilização da clorhexidina na prática clínica, seu uso deve ser reservado para aqueles casos de peritonite secundária grave, nos quais o cirurgião julgue que a eventual redução na mortalidade supere os riscos decorrentes da formação de aderências e menor resistência de uma anastomose intestinal. Embora admitindo que os dados obtidos no laboratório de cirurgia experimental não tenham aplicação direta na conduta dos cirurgiões, esses dados podem ser úteis no planejamento de pesquisas clínicas que atestem o real valor da adição de antissépticos ao líquido de irrigação da cavidade peritoneal em presença de peritonite.

8. CONCLUSÃO

O grau de inflamação do peritônio visceral foi menor nos animais tratados com clorhexidina quando comparados àqueles em que a cavidade foi lavada com solução salina.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singhal R, Hull P, Budhoo M. Management of left sided colorectal emergencies. Results of a postal questionnaire. *Minerva Chir.* 2007; 62(6): 437-41.
2. Pieracci FM, Barie PS. Management of severe sepsis of abdominal origin. *Scand J Surg.* 2007; 96: 184-196.
3. Schein M, Wittmann DH, Holzheimer R, Condon RE. Hypothesis: compartmentalization of cytokines in intraabdominal infection. *Surgery* 1996; 119(6): 694-700.
4. Sido B, Teklote JR, Hartel M, Friess H, Büchler MW. Inflammatory response after abdominal surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2004; 18(3): 439-54.
5. Robertson CM, Coopersmith CM. The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes Infec.* 2006; 8: 1382-9.
6. Olivier Van Till JW, Van Veen SQ, Van Ruler O, Lamme B, Gouma DJ, Boermeester MA. The innate immune response to secondary peritonitis. *Shock* 2007; 28(5): 504-17.
7. Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastrointestinal tract. *Br. J. Surg.* 1970; 57: 896-900.
8. Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum.* 1990; 33(10): 891-901.
9. Ahrendt GM; Tantry US; Barbul A. Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg.* 1996; 171(1):102-7; discussion 107-8.
10. Thornton FJ, Barbull A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am.* 1997; 77: 549-73.
11. Orlando MD, Chendrasekhar A, Bundz S, Burt ET, Moorman DW, Timberlake GA. The effect of peritoneal contamination on wound strength of small bowel and colonic anastomoses. *Am Surg.* 1999; 65(7): 673-76.

12. Ergin E, Paksoy M, Erguney S, Uzun H, Sakoglu N. The effects of the immunomodulators on the colonic anastomosis in an experimental model of intraperitoneal sepsis. *Hepatogastroenterology* 2004; 51(56): 439-42.
13. Bosscha K, Van Vroonhovent TJMV, Van Der Werken C. Surgical management of severe secondary peritonitis. *Br J Surg.* 1999; 86(11): 1371-7.
14. Holzheimer RG, Dralle H. Paradigm change in 30 years peritonitis treatment - a review on source control. *Eur J Med Res.* 2001; 6(4): 161-8.
15. Emmanuel K, Weighardt H, Bartels H, Siewert JR, Holzmann B. Current and Future Concepts of Abdominal Sepsis. *World J. Surg.* 2005; 29: 3-9.
16. Malangoni AM. Contributions to the management of intraabdominal infections. *Am J Surg.* 2005; 190: 255-9.
17. Nathens AB, Rotstein OD. Therapeutic options in peritonitis. *Surg Clin North Am.* 1994; 74(3): 677-92.
18. Wittmann DH, Schein M, Condon RE. Management of secondary peritonitis. *Ann Surg.* 1996; 224(1): 10-8.
19. Platell C, Papadimitriou JM, Hall JC. The Influence of Lavage on Peritonitis. *J. Am Coll Surg.* 2000; 191(6).
20. Platt J, Jones RA, Bucknall RA. Intraperitoneal antiseptics in experimental bacterial peritonitis. *Br J Surg.* 1984; 71(8): 626-8.
21. Edmiston Jr. CE, 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: 176-183.
22. Celdran UA, Inãrrea LP, Marijuan MJL, Castilla RC, Ponte MMC, Madero JR, Deoya OM. Effect of povidone iodine and chlorhexidine on the mortality and bacterial clearance in the abdominal cavity of peritonitis rats. *Eur J Surg.* 1991; 157(6-7): 393-5.

23. Ablan CJ, Olen RN, Dobrin PB, O'keefe P, Tatarowicz W, Freeark RJ. Efficacy of intraperitoneal antibiotics in the treatment of severe fecal peritonitis. *Am J Surg.* 1991; 162(5): 453-6.
24. Rosman C, Westerveld GJ, Kooi K, Bleichrodt RP. Local treatment of generalised peritonitis in rats; effects on bacteria, endotoxin and mortality. *Eur J Surg.* 1999; 165(11): 1072-9.
25. Akkus AK, Gülmen M, Çevik A, Bildik N, Orhan S, Öztürk E, *et al.* Effect of Peritoneal Lavage with Taurolidine on Primary Colonic Anastomosis in a Rat Model of Secondary Peritonitis. *Surg Today.* 2006; 36: 436-40.
26. Bondar VM, Rago BSC, Cottone FJ, Wilkerson DK, Riggs J. Chlorhexidine Lavage in the Treatment of Experimental Intra-abdominal Infection. *Arch Surg.* 2000; 135: 309-14.
27. Brocco MC, Salomão PDN, Baptista JFA, Carraretto AR, Ferrari TA, Azevedo TCV, *et al.* Efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal. *Rev. bras. anesthesiol.* 2008; 58(5): 470-9.
28. Lelynov AD, Sergienko VI, Ivliev NV. Effects of sodium hypochlorite and ozone on healing of intestinal anastomosis in simulated strangulation colorectal obstruction. *Bull Exp Biol Med.* 2004; 137(1): 103-5.
29. Lores ME, Ortíz JR, Rosselló PJ. Peritoneal lavage with povidone-iodine solution in experimentally induced peritonitis. *Surg Gynecol Obstet.* 1981; 153(1): 33-8.
30. Teke Z, Aytekin FO, Kabay B, Yenisey C, Aydin C, Tekin K, Sacar M, Ozden A. Pyrrolidine Dithiocarbamate Prevents Deleterious Effects of Remote Ischemia/Reperfusion Injury on Healing of Colonic Anastomoses in Rats. *World J Surg.* 2007; 31: 1835-42.
31. Maleckas A; Daubaras V; Vaitkus V; Aniuliene A; Dirzinauskas E; Rakauskas M; Pundzius J. Increased postoperative peritoneal adhesion formation after the treatment of experimental peritonitis with chlorhexidine. *Langenbecks Arch Surg.* 2004; 389: 256-60.
32. Vallance S, Waldron R. Antiseptic vs. saline lavage in purulent and faecal peritonitis. *J. Hosp. Infect.* 1985; 6 (suppl): 87-91.

33. Puryan K, Karadayi K, Topcu O, Canbay E, Sumer Z, Turan M, Karayalcin K, Sen M. Chlorhexidine gluconate: an ideal scolicial agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis? *World J Surg.* 2005; 29(2): 227-30.
34. Sortini D, Feo CV, Maravegias K, Carcoforo P, Pozza E, Liboni A, Sortini A. Role of peritoneal lavage in adhesion formation and survival rate in rats: an experimental study. *J Invest Surg.* 2006; 19(5): 291-7.
35. Kreimer F, Aguiar JCA, Castro CMMB, Lacerda CM, Reis T, Lisboa Junior F. Resposta terapêutica e inflamatória de ratos com peritonite secundária submetidos ao uso tópico de ampicilina / Sulbactan. *Acta Cir. Bras.* 2005, 20 (supl. Nº. 1): 31-9.
36. Schein M, Gecelter G, Freinkel W, Gerding H, Becker PJ. Peritoneal lavage in abdominal sepsis. A controlled clinical study. *Arch Surg.* 1990; 125(9): 1132-5.
37. Milagres LC, Araújo ID, Barral SM, Grossi GCX, *et al.* Efeito do uso de povidine-iodine na cicatrização de anastomoses de cólon direito de ratos. *Arq. Gastroenterol.* 2005; 42(2): 95-8.
38. Lineaweaver W, Howard R, Soucy D, Mcmorris S, Freeman J, Crain C, *et al.* Topical antimicrobial toxicity. *Arch Surg.* 1985; 120(3): 267-70.
39. Dunn DL, Barke RA, Ahrenholz DH, Humphrey EW, Simmons RL. The Adjuvant Effect of Peritoneal Fluid in Experimental Peritonitis Mechanism and Clinical Implications. *Ann. Surg.* 1984; 199(1).
40. Yao V, Platell C, Hall JC. Lavage enhances the production of proinflammatory mediators by peritoneal mesothelial cells in an experimental model. *Dis Colon Rectum.* 2005; 48(3): 560-6.
41. Maddaus MA, Ahrenholz D, Simmons RL. The biology of peritonitis and implications for treatment. *Surg Clin North Am.* 1988; 68(2): 431-43.
42. Hart PH, Jones CA, Finlay-Jones JJ. Peritoneal macrophages during peritonitis. Phenotypic studies *Clin. Exp. Immunol.* 1992; 88: 484-91.
43. Fieren MW, Van Den Bemd GJ, Bonta IL. Peritoneal macrophages from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis show a differential secretion of prostanoids and interleukin-1 beta. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1992; 47(1): 23-8.

44. Zemel D, Betjes MG, Dinkla C, Struijk DG, Krediet RT. Analysis of inflammatory mediators and peritoneal permeability to macromolecules shortly before the onset of overt peritonitis in patients treated with CAPD. *Perit Dial Int.* 1995; 15(2): 134-41.
45. Teale DM, Atkinson AM. Inhibition of nitric oxide synthesis improves survival in a murine peritonitis model of sepsis that is not cured by antibiotics alone. *J Antimicrob Chemother.* 1992; 30(6): 839-42.
46. Hadjiminias DJ, McMasters KM, Peyton JC, Cook MD, Cheadle WG. Passive immunization against tumor necrosis factor and interleukin-1 fails to reduce lung neutrophil sequestration in chronic sepsis. *Shock.* 1994; 2(5): 376-80.
47. McMasters KM, Cheadle WG. Regulation of macrophage TNF alpha, IL-1 beta, and Ia (I-A alpha) mRNA expression during peritonitis is site dependent. *J Surg Res.* 1993; 54(5): 426-30.
48. Oghiso Y, Yamada Y, Shibata Y. Exudation of proliferative macrophages in local inflammation in the peritoneum. *J. Leukoc. Biol.* 1992; 52: 421-4.
49. Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl.* 1991; 566: 1-51.
50. Poppert P. Die allgemeine oder diffuse fortschreitende. Peritonitis. In: Holzheimer RG, Dralle H. Wullstein and Wilms. (eds) *Lehrbuch der Chirurgie.* Gustav Fischer, Jena. 2001; 8-13.
51. Torres OJM, Macedo EL, Melo TCM, Costa JVG, Nunes PMS, Viana RMM, *et al.* Peritonite fecal em ratos: eficácia da lavagem da cavidade peritoneal com solução de cloreto de sódio a 0,9% por cento. *Acta Cir. Bras.* 1999; 14(2): 65-8.
52. Hunt JL. Generalized peritonitis. To irrigate or not to irrigate the abdominal cavity. *Arch Surg.* 1982; 117(2): 209-12.
53. Aytekin FO, Teke Z, Aydin C, Kabay B, Yenisey C, Sacar S, *et al.* Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis in rats. *Am J Surg* 2007; 193: 723-9.

54. Rodeheaver G, Bellamy W, Kody M, Spatafora G, Fitton L, Leyden K, Edich R. Bactericidal activity and toxicity of iodine-containing solutions in wounds. *Arch Surg.* 1982; 117(2): 181-6.
55. Lauffman H. Current use of skin and wound cleansers and antiseptics. *Am. J. Surg.* 1989; 157: 359.
56. Ballantyne G. The experimental basis of intestinal suturing. *Dis. Colon Rectum.* 1984; 27: 61-72.
57. Braskén P, Lehto M, Renvall S. Changes in the connective tissue composition of the submucosal layer of colonic anastomosis. *Acta Chir Scand.* 1989; 155: 413-9.
58. Martens MFWC, Huyben CMLC, Hendriks TH. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut.* 1992; 33: 1664-70.
59. Conrad JK; Ferry KM; Foreman ML; Gogel BM; Fisher TL; Livingston AS. Changing Management Trends in Penetrating Colon Trauma. *Dis. Colon Rectum.* 2000; 43: 466-71.
60. Deitch EA. Rodent models of intra-abdominal infection. *Shock.* 2005; 24(suppl. 1): 19-23.
61. Rittirsch LD, Hoesel M, Ward PA. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol.* 2007; 81: 137-43.
62. 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.
63. Mathiak G, Szewczyk D, Abdullah F, Ovadia P, Feuerstein G, Rabinovici R. An improved clinically relevant sepsis model in the conscious rat. *Crit Care Med.* 1947; 28(6):1947-52.
64. Ebong S, Call D, Nemzek J, Bolgos G, Newcomb D, Remick D. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Infect Immun.* 1999; 67(12): 6603-10.

65. Salgado Jr. W, Cunha FQ, Sankarankuty AS, Santos JS. Desenvolvimento de modelo de peritonite bacteriana para avaliação do tratamento mediante acesso laparotômico e video-laparoscópico. *Acta Cir. Bras.* 2001; 16(supl.1): 9-12.
66. Bicalho PRR, Lima LB, Alvarenga DG, Duval AI, Nunes TA, Reis FA. Clinical and histological responses to laparoscopically-induced peritonitis in rats. *Acta cir. Brás.* 2008; 23(5): 456-61.
67. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of Gram-negative sepsis. *Br J Surg.* 2001; 88(1): 22-30.
68. Garrido AG, Figueiredo LFP, Silva MR. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. *Acta Cir. Bras.* 2004; 19(2): 82-88.
69. Poli-de-Figueiredo FL, Garrido GA, Nakagawa N, Sannmiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock.* 2008, 30(suppl 1): 53-9.
70. Hollenber SM. Mouse models of resuscitated. *Shock.* 2005; 24(suppl. 1): 58-63.
71. Hanly EJ, Mendoza-Sagaon M, Murata K, Hardacre JM, De Maio A, Talamini MA. CO2 Pneumoperitoneum Modifies the Inflammatory Response to Sepsis. *Ann Surg* 2003; 237(3): 343-50.
72. Polk HC, Fry DE. Radical peritoneal debridement for established peritonitis. The results of a prospective randomized clinical trial. *Ann Surg.* 1980; 192(3): 350-5.
73. Sugimoto K, Hirata M, Takishima T, Ohwada T, Shimazu S, Kakita A. Mechanically assisted intraoperative peritoneal lavage for generalized peritonitis as a result of perforation of the upper part of the gastrointestinal tract. *J Am Coll Surg.* 1994; 179(4): 443-8.
74. Seiler CA, Brügger L, Forssmann U, Baer HU, Büchler MW. Conservative surgical treatment of diffuse peritonitis. *Surgery* 2000; 127(2): 178-84.