

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços no tratamento da peritonite, não houve nas duas últimas décadas diminuição da mortalidade por essa doença.<sup>1</sup> A mortalidade aumenta quando ocorre disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. Essa disfunção, embora não tenha uma patogenia bem elucidada, parece ser decorrente de um processo inflamatório complexo. A resposta séptica é associada à liberação de citocinas antiinflamatórias e inflamatórias<sup>2-4</sup> com subsequente ativação dos leucócitos, do complemento e da cascata da coagulação,<sup>5</sup> além da produção de anticorpos e da destruição bacteriana por polimorfonucleares.<sup>6</sup>

Os mediadores, como Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1  $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) e óxido nítrico (NO), apresentam papéis fundamentais na sepse, e os mediadores antiinflamatórios estão presentes concomitantemente, modulando os efeitos e a liberação dos mediadores inflamatórios.<sup>7</sup>

Os anestésicos locais têm se mostrado eficazes para modular a cascata inflamatória na isquemia e na reperfusão do coração,<sup>8,9</sup> do pulmão<sup>10,11</sup> e do fígado.<sup>12,13</sup> Esses anestésicos são capazes de exercer efeito antiinflamatório em vários tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e neutrófilos.<sup>14</sup> A lidocaína a 1% e a bupivacaína a 0,5% se mostraram eficazes na prevenção da peritonite induzida por ácido clorídrico a 0,1 molar, em relação à solução salina.<sup>15</sup> Camundongos com peritonite séptica induzida, segundo modelo experimental,<sup>16</sup> tratados com lidocaína a 5% e a 10% e bupivacaína a 1% e a 2% por via subcutânea, com bomba de infusão, apresentaram diminuição da

mortalidade e proteção contra disfunções hepáticas e renais por atenuar a resposta hiperinflamatória.<sup>17</sup>

Se a peritonite é frequente, os antibióticos isoladamente não são eficazes, e a doença é grave. Há que se buscar ajuda nesses recursos terapêuticos. Embasados nesses aspectos, questionamos se a aplicação intraperitoneal de anestésico local na cavidade abdominal não poderia interferir na sobrevivência de animais submetidos à peritonite.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar o efeito da lavagem peritoneal com solução de lidocaína ou de bupivacaína na sobrevivência de ratos com peritonite experimental fecal produzida por fezes de rato.

### 3 RELEVÂNCIA

A lidocaína e a bupivacaína utilizadas em laboratório, em várias concentrações, se mostraram eficazes contra algumas bactérias experimentalmente<sup>32</sup>. Essa eficácia foi mais evidente quando usados no subcutâneo ou em cavidade abdominal de ratos com peritonite séptica.

Sendo confirmada a eficácia dos anestésicos locais lidocaína e bupivacaína, aplicados na cavidade abdominal, para aumentar a sobrevida em ratos com peritonite, abre-se um novo horizonte para o tratamento das peritonites. Outros anestésicos locais poderiam ser testados para verificar se aumentam a sobrevida, bem como poderia ser estudado o efeito de cada anestésico local contra as bactérias causadoras de peritonite, assim como na melhoria da função dos órgãos e na reação inflamatória produzida após a aplicação intraperitoneal desses fármacos.

## 4 REVISÃO DA LITERATURA

No tratamento das peritonites vários recursos foram descritos em seres humanos, em laboratório e em animais de experimentação.

### 4.1. EM SERES HUMANOS.

#### 4.1.1. Via de acesso laparoscópica (VAL)

Tem sido utilizada no tratamento da peritonite em algumas doenças.

a- Perfuração de divertículo do cólon. A VAL foi utilizada e complementada por lavagem peritoneal para remoção do conteúdo fecal e purulento, associada à cola biológica para cobertura das lesões contaminadas do cólon, com dreno colocado próximo à lesão e antibióticos no pós-operatório. A colostomia não foi realizada. A morbidez foi baixa, a mortalidade, ausente e a duração de hospitalização foi cerca de oito dias.<sup>18</sup>

b- Apendicite aguda. A VAL para apendicectomia tem sido amplamente utilizada.<sup>19-23</sup> Quando se comparou essa via de acesso com a via aberta para apendicectomia, verificou-se que a via laparoscópica produziu maior tempo operatório,<sup>20</sup> menor incidência de infecção intra-abdominal,<sup>21</sup> menor incidência de infecção de parede,<sup>21-23</sup> menor incidência de complicações pós-operatórias,<sup>23</sup> ou mesmo ausência,<sup>24</sup> menor consumo de analgésico,<sup>20, 23</sup> melhor conforto pós-operatório,<sup>19, 24</sup> retorno mais rápido às atividades normais,<sup>20</sup> menor incisão e, melhor aspiração da cavidade abdominal.<sup>24</sup> Além disso a VAL é preferida quando o diagnóstico de apendicite é duvidoso.<sup>21,22</sup>

c- Peritonite difusa. A VAL foi realizada em 32 pacientes com essa doença, acrescida de aspiração da cavidade peritoneal e irradiação por laser He-Ne (helio-neônio) do peritônio e dos órgãos parenquimatosos. Diminuindo assim a reação inflamatória e número de óbitos.<sup>25</sup>

#### **4.1.2. Lavagem peritoneal**

Segundo Schein *et al*,<sup>26</sup> a lavagem intraperitoneal com água esterilizada foi realizada por Joseph Price, um ginecologista, em 1905. Torek, em 1911, reduziu a mortalidade por peritonite de 100% para 33%, por meio da lavagem peritoneal com solução salina. No mesmo ano, Thomas H. Morse, irrigou a cavidade peritoneal com 9,5 litros de água a 105 graus Fahrenheit (40,5°C), após a sutura com sucesso de úlcera gástrica perfurada. A lavagem peritoneal, no entanto, foi contestada por alguns cirurgiões, entre os quais Deaver, nos EUA, e Lord Moynihan, no Reino Unido.<sup>26</sup> A lavagem peritoneal diminuiu significativamente o tempo de internação hospitalar em 189 crianças com peritonite por perfuração de apêndice.<sup>27</sup> A lavagem peritoneal com antibióticos (tetraciclina 1g em 1 litro de solução salina ou noxitiolina 10g em 1 litro de solução salina) reduziu significativamente o número de crianças com sepse e aderências, comparado com o de crianças submetidas à lavagem com antissépticos ou à não lavagem.<sup>27</sup> Entretanto até o presente momento, a lavagem peritoneal é motivo de controvérsia.

#### **4.1.3. Soluções antibacterianas.**

A lavagem da cavidade peritoneal com 100 a 200 mL de álcool etílico a 70% por cinco minutos, em pacientes com peritonite por apendicite, com ruptura de vísceras (estômago, intestino, vesícula biliar), ou com doença inflamatória pélvica (DIP), diminuiu a mortalidade de 50% para 4%.<sup>28</sup> A infusão intraperitoneal de imunoglobulina com penicilina e sulbactam diminuiu o número de trocas do dialisado e o número de leucócitos em relação à infusão

apenas dos dois antibióticos em pacientes com peritonite por diálise peritoneal.<sup>29</sup>

#### **4.1.4. Antibióticos na cavidade peritoneal.**

O uso de antibiótico por 16h a 36 horas em 14 pacientes (2g de ampicilina em dois pacientes e 10 milhões de unidades penicilina e 1 grama de kanamicina em 12 pacientes), na lavagem peritoneal contínua em pacientes com peritonite generalizada de origem ginecológica (ruptura de abscesso tubovariano, com tumor maligno da pélvis, e complicação de radioterapia para tumor maligno), mostrou-se útil, eficaz e seguro.<sup>30</sup> Na peritonite aguda por apendicite, foi comparada a eficácia de dois esquemas terapêuticos. O primeiro esquema consistiu na lavagem abdominal com soro fisiológico e administração imediata, por via intravenosa, durante cinco dias, de 3 doses de 2 gramas de Spectacilina e de 3 doses de 600 mg de Clindamicina. O segundo esquema consistiu na lavagem abdominal com 500 mL a 1000 mL de taurolin a 0,5% em Ringer (Drainasept<sup>®</sup>) e administração diária de 100 mL de taurolin a 2% pelo dreno intraperitoneal. A eficácia de ambos esquemas foi semelhante.<sup>31</sup>

#### **4.2. EM LABORATÓRIO**

Foram estudados os efeitos da ação dos anestésicos locais sobre a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e a *Candida albicans*. A ropivacaína não inibiu nenhum dos microorganismos. A bupivacaína a 0,5% e a 0,25%, a lidocaína a 5% e 2% e a prilocaína a 2% reduziram a viabilidade das colônias dos microorganismos testados. A prilocaína a 1% reduziu a viabilidade da *Escherichia coli*, do *Staphylococcus aureus* e da *Pseudomonas aeruginosa*. A lidocaína a 1% reduziu apenas a

viabilidade da *Pseudomonas Aeruginosa*, e a prilocaína 0,5% reduziu apenas a da *Escherichia coli*<sup>32</sup>

A lidocaína ou solução salina foi adicionada à lavagem brônquica. A lidocaína reduziu o crescimento do *Streptococcus pneumoniae* de modo mais eficaz que a solução salina. Entretanto, solução salina normal reduziu o crescimento da *Moxarella catarrhalis*, nessa limpeza, quando comparada à lidocaína. Finalmente as duas soluções não tiveram efeito sobre o *Haemophilus influenzae*, a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Candida albicans*.<sup>33</sup>

A lidocaína, em concentrações a 1%, 2% e 4%, com ou sem adrenalina, foi testada em cepas isoladas de bactérias comumente encontradas em feridas hospitalares: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e, em cepas resistentes a meticilina e vancomicina de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus*. A lidocaína inibiu de forma dose dependente o crescimento das cepas de bactérias testadas. A grande sensibilidade à lidocaína foi mostrada contra organismos Gram negativos. A menor sensibilidade à lidocaína foi contra o *Staphylococcus aureus*. A adição de adrenalina não alterou a sensibilidade de bactérias à lidocaína.<sup>34</sup>

Os anestésicos tópicos nasais, tais como a lidocaína a 4% associada à fenilefrina 0,25%, cocaína a 4% com fenilefrina a 0,25% e metilparaben a 0,1%, foram testados contra a *Branhamella catarrhalis*, a *Enterobacter sp*, o *Haemophilus influenzae*, a *Klebsiella pneumoniae*, a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus pneumoniae*. A cocaína apresentou maior atividade antibiótica que a lidocaína. A fenilefrina e o metilparaben mostraram discreta atividade antibiótica.<sup>35</sup>

#### 4.3. EM ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Os diversos tipos de tratamento da peritonite experimental serão relatados a seguir:

a- Via de acesso laparoscópica. Foi utilizada para tratamento da peritonite bacteriana em ratos, produzida por ligadura do ceco sob molde rígido de 3 mm de diâmetro seguida de 14 punções com agulha 10G de 1,5 cm de comprimento. Após seis horas, fez-se a laparotomia ou a videolaparoscopia para tiflectomia, com ou sem lavagem por solução salina. A mortalidade foi de 80% na videolaparoscopia e de 20% na laparotomia.<sup>36</sup> Observou-se, no entanto, que a videolaparoscopia com lavagem aumentou a sobrevivência de ratos em comparação com o grupo não lavado.<sup>37</sup>

b-Irrigação do abdome. Essa conduta se mostrou eficaz no tratamento da peritonite em cães, de acordo com Herlein, na Alemanha, em 1776.<sup>38</sup> Torres *et al.*<sup>39</sup> mostraram que a lavagem da cavidade abdominal em ratos com solução salina a 0,9% reduziu os índices de mortalidade em ratos com peritonite por fezes humanas. A irrigação da cavidade foi mais eficaz que o não tratamento e que a limpeza da cavidade com gaze estéril. A lavagem peritoneal, no entanto, se mostrou ineficaz no tratamento da peritonite fecal em cães<sup>40</sup> e cobaia.<sup>41</sup>

c- Antibióticos. A associação de pefloxacin com ornidazole foi capaz de reduzir a contagem bacteriana fecal e suprimir a bacteremia em peritonite provocada pela inoculação de *Escherichia coli* e de *Bacteroides fragilis*, com concentrações diferentes de *Enterococcus fecalis*.<sup>42</sup>

#### d- Lavagem com solução salina e antibióticos

Foi utilizado na peritonite produzida em cobaias por injeção de fezes humanas intraperitoneal. A lavagem apenas com solução salina aumentou a taxa de sobrevivência de 0% para 45%. Quando se acrescentou o antibiótico (cloranfenicol, kanamicina) à solução para lavagem, a taxa de sobrevivência aumentou para 75% e 80%<sup>43</sup> além de reduzir a formação de abscessos intra-abdominais. Saldivia *et al*<sup>44</sup> mostraram que a lavagem peritoneal com solução salina e a instilação tópica de gentamicina e clindamicina foram mais eficazes para diminuir a mortalidade que a lavagem na peritonite provocada por fezes do próprio animal. Os autores, no entanto, consideraram importante aumentar a amostra para confirmar os resultados.

#### e- Antissépticos

O uso de antissépticos retornou à terapêutica por causa do aumento da resistência bacteriana aos antibióticos.<sup>45</sup> A noxitiolina e o povidine-iodo foram investigados. Povidine-iodo reduziu significativamente a mortalidade em camundongos e ratos ( $p < 0,01$ ) com peritonite enquanto que a noxitiolina a 0,5% e a 1% não reduziu.<sup>45</sup> Foi constatado que o povidine-iodo foi mais eficaz do que a noxitiolina na redução de formação de aderências peritoneais em ratos.<sup>45</sup> Platt *et al.*<sup>46</sup> em 1984 testaram antissépticos em camundongos em que foi produzida peritonite com 0,2 mL intraperitoneal de *Escherichia Coli*, 10 vezes a dose letal média ( $LD_{50}$ ). Dos cinco antissépticos testados (taurolin 2%, povidine iodine 2%, noxitiolina a 1% e 2%, hipoclorito a 2%, clorexidine a 0,02% e 0,05%), apenas a clorexidine a 0,02% e a 0,05% se mostrou eficaz e reduziu a mortalidade para 14% e 50%, respectivamente. Entretanto quando

foi injetado uma hora após a indução da peritonite, esse antisséptico não foi tão eficaz, demonstrando a importância do início do tratamento.

f- Membrana celulósica. Foi utilizada para bloqueio transdiafragmático na peritonite induzida em ratos Wistar por inoculação de suspensão bacteriana qualitativa e quantitativa predeterminada de *Pseudomonas*.<sup>47</sup> Os animais submetidos a bloqueio transdiafragmático prévio com membrana celulósica apresentaram maior sobrevida e menor frequência de derrame pleural estatisticamente significativa quando comparados aos animais não submetidos a bloqueio.<sup>47</sup>

g- Anticorpo policlonal. A administração de um anticorpo policlonal específico contra o receptor transmembrana cujo ligante é a interleucina-8 (CXCR2) diminuiu significativamente a mortalidade induzida em camundongos por peritonite provocada por punção e ligadura cecal. O tratamento fez com que os macrófagos peritoneais tivessem aumento acentuado dos níveis de proteínas e ácido ribonucleico (RNA) de várias citocinas pró-inflamatórias e de quimiocinas. A ausência de (CXCR2) protegeu o camundongo da injúria séptica por retardar o recrutamento de células inflamatórias e aumentar a expressão de uma proteína secretada por vários tipos de células como: monócitos, fibroblastos e células endoteliais, e que possui ações de quimio-atração para monócitos, macrófagos, células T.<sup>48</sup>

h- Conduta cirúrgica na peritonite. A colostomia comparada à colorrafia na peritonite localizada apresenta resultados similares em ratos.<sup>49</sup>

i- Comparação entre diversas modalidades terapêuticas. Foram comparados a limpeza mecânica versus solução salina a 0,9%, à temperatura ambiente e a 37,8 °C, o polivinilpirrolidona iodo (PVPI) a 0,5%, a clorhexidine

a 0,05%, a gentamicina e a clindamicina IM, e o açúcar intraperitoneal.<sup>50</sup> Os grupos do polivinilpirrolidona iodo (PVPI) e açúcar tiveram mortalidade mais rápida (<22 horas). Os animais do grupo gentamicina e clindamicina faleceram após um período mais longo (72 horas). Apenas nos animais submetidos a limpeza menos agressiva ocorreu sobrevida.<sup>50</sup> Além disso a limpeza única ou antibiótico sistêmico por um dia não foi suficiente para evitar o óbito em rato com peritonite fecal grave, estabelecida pelas próprias fezes.

j- Oxigenoterapia hiperbárica. No tratamento da peritonite meconial, diminuiu a reação inflamatória, o que foi benéfico.<sup>51</sup> Na peritonite por punção cecal, aumentou a sobrevida dos ratos.<sup>52</sup>

k- Anestésicos locais. A lidocaína a 1% e a bupivacaína a 0,5%, se mostraram eficazes na prevenção da peritonite induzida por ácido clorídrico a 0,1molar, em relação à solução salina.<sup>15</sup> Camundongos com peritonite séptica induzida segundo modelo experimental,<sup>16</sup> tratados com lidocaína a 5% e a 10% e com bupivacaína a 1% e a 2% por via subcutânea, com bomba de infusão, apresentaram diminuição da mortalidade e proteção contra disfunções hepáticas e renais por atenuar a resposta hiperinflamatória.<sup>17</sup>

## 5 MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Cetea) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), de acordo com o protocolo número 144/06 (COEP- CETEA).(ANEXO 1).

Foram operados 72 ratos Wistar, sexo masculino, pesando entre 300 g e 330 g, provenientes do Biotério da Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (Emescam). Desses, 12 foram utilizados para estudo piloto e 60 para o estudo definitivo.

### 5.1. ESTUDO PILOTO

Os ratos desse estudo serviram para treinamento da técnica da produção de peritonite e para se observar a evolução clínica. Foi verificada se a injeção intraperitoneal de fezes, recém-defecadas dos próprios animais, numa suspensão de 2 g de fezes em 17 mL de solução salina e injetada na dose de 5 mL/kg peso, na cavidade abdominal, seria satisfatória para o propósito da pesquisa. O resultado mostrou a ocorrência de peritonite, secreção purulenta na cavidade abdominal, edema e hiperemia das alças intestinais e a presença de bactérias. Esse estudo foi útil também para se determinar a técnica de lavagem da cavidade abdominal com a solução salina a 0,9% acrescida ou não de anestésico local.

### 5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Todos os sessenta animais foram anestesiados no músculo da face anterior da coxa direita com cloridrato de S(+) cetamina (Cristalia<sup>®</sup>, São Paulo Brasil) na dose de 12,5 mg/kg) de peso do animal e submetidos a uma punção abdominal com cateter de teflon 16G, no quadrante inferior esquerdo do abdome. A seguir foi injetada na cavidade abdominal uma suspensão de fezes

recém-defecadas preparada com 2 g de fezes recentes diluída em 17 mL de solução salina. Antes da injeção, a referida suspensão foi filtrada em uma gaze a fim de permitir a sua livre passagem pelo interior da agulha em direção à referida cavidade. Dessa suspensão foram injetados 5 mL/kg de peso do animal na cavidade abdominal (Figura 1).



Figura 1- Injeção de solução de fezes recém defecadas na cavidade peritoneal do rato.

Seis horas após a indução da peritonite, os ratos foram anestesiados via intramuscular na face anterior da coxa direita, com uma mistura de cloridrato de xilazina (2,5 mg/kg Laboratório König. SA<sup>®</sup>, Argentina) e cloridrato de S(+) cetamina 50 mg/kg (Cristalia<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) então submetidos à laparotomia mediana, cerca de 2 cm de comprimento, exame da cavidade (Figura 2) e coleta de 0,5 mL de secreção para bacterioscopia, cultura e antibiograma. Nessa ocasião os ratos foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de 12 animais: 1- (n=12) Controle, nenhum tratamento; 2- (n=12) Enxugamento da cavidade abdominal; 3- (n=12) Lavagem da cavidade abdominal com 3 mL de solução salina 0,9% e enxugamento ; 4- (n=12) Lavagem da cavidade abdominal com 30 mg/Kg ( 0,5 mL) de lidocaína 2%,

diluída, com 2,5 mL de solução salina 0,9% e enxugamento; 5- (n=12) Lavagem da cavidade abdominal com 8 mg/Kg (0,5 mL) de bupivacaína 0,5%, diluída, com 2,5 mL de solução salina 0,9% e enxugamento .

Nos grupos 3, 4 e 5, após o enxugamento da cavidade abdominal com compressa de gaze seca, foi injetada na cavidade solução salina, (com ou sem anestésico) e aí deixada por três minutos. Nesse período a solução foi manipulada cuidadosamente entre as vísceras abdominais, para um maior contato com o peritônio. Após esse procedimento, o líquido peritoneal foi enxugado suavemente, com compressa de gaze seca, a fim de retirar a maior quantidade possível do referido líquido. A parede abdominal foi suturada em dois planos com “mononylon” 4-0, com chuleio simples. No 1º plano foi suturado o plano músculoaponeurótico; e no 2º plano, a pele. Todos os animais foram colocados em gaiolas com capacidade para até 6 animais, alimentados com ração própria para ratos (Nuvital<sup>®</sup>) e água *ad libitum*. A hidratação foi feita com 5 mL de solução salina 0,9% dose única via subcutânea a cada 24 horas por dois dias.<sup>53</sup> A analgesia foi feita com cloridrato de nalbufina (Cristalia<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) na dose de 0,1 mg/kg de peso do animal injetada no subcutâneo de 8 em 8 horas por dois dias.

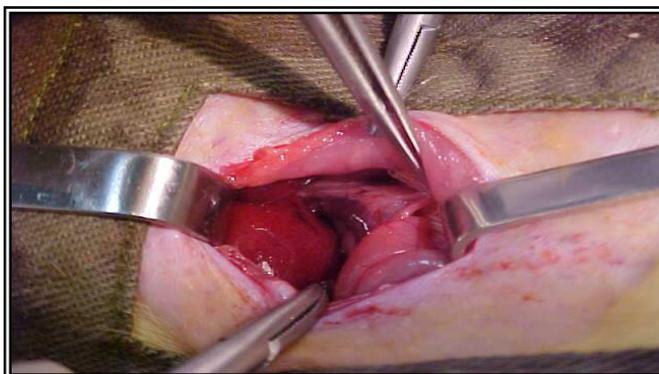


Figura 2- Laparotomia mediana e exame da cavidade abdominal

### 5.2.1 Evolução

Os animais que faleceram foram necropsiados, e o horário do óbito foi anotado. Os sobreviventes foram eutanasiados com pentobarbital (Cristalia<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) na dose de 50 mg/kg de peso do animal via intraperitoneal entre o 10º dia e o 15º dia de pós-operatório para necropsia. Nessa ocasião foi realizada uma incisão em forma de ferradura ou U invertido e foram examinadas, na cavidade abdominal, as possíveis aderências e os focos de infecção macroscópicos. As vísceras torácicas foram também examinadas. As aderências foram classificadas em seis graus, modificado por Diogo-Filho *et al*<sup>54</sup>: grau 0- ausência de aderências; grau 1- número reduzido de aderências, de caráter fibrinoso, facilmente desfeitas pela manipulação; grau 2- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças intestinais, porém não envolvendo a parede abdominal; grau 3- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e um órgão ou estrutura; grau 4- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e mais de um órgão ou estrutura; grau 5- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças e, entre alças e a parede abdominal com fístula entérica.

### 5.2.2. Método bacteriológico.

Antes de iniciar o procedimento, as mãos foram lavadas cuidadosamente, com sabão cirúrgico, enxaguadas e secadas com toalhas de papel. As luvas estéreis foram, colocadas para proteger as mãos e evitar contaminações. Foi realizada aspiração de secreção abdominal com seringa e, a seguir, removeu-se esta do local, cuidando-se para não haver contaminação da agulha. Foram transferidas as alíquotas de secreção para dois frascos (um

frasco para microorganismos aeróbios e outro para anaeróbios) contendo meio de cultura (Hemocult<sup>®</sup>). Após a limpeza da tampa de borracha dos frascos com algodão embebido em álcool 70%, foi transpassada a rolha de borracha por meio de uma agulha aproveitando-se o vácuo do interior do frasco para promover a aspiração da secreção; um dos frascos foi aerado (usando-se uma agulha estéril protegida com um algodão) e o outro permaneceu em condições anaeróbias. Os frascos foram homogeneizados suavemente e incubados em estufa bacteriológica a 35 °C por um período inicial entre 18 h e 24 h. Quando houve suspeita de leveduras, os frascos aeróbios foram agitados. Após o primeiro período de incubação, os frascos foram inspecionados na procura de sinais de crescimento, ou seja, turbidez, bolhas ou hemólise e, se negativo o resultado esse procedimento foi mantido por até sete dias; suspeitando-se da presença de leveduras, fez-se a incubação em aerobiose, com agitação constante de preferência em agitador de Kline<sup>®</sup>. Ao final do primeiro dia, havendo ou não crescimento, o material de cada frasco foi repicado em uma placa de ágar-sangue e uma placa de ágar-chocolate e examinou-se a amostra corada pelo método de Gram. Esse procedimento foi repetido ao final do sétimo dia de incubação. A placa de ágar-sangue, conforme recomendações, foi mantida em anaerobiose e a de ágar-chocolate sob tensão de CO<sub>2</sub> a 10%. Nos casos de positividade da cultura, procedeu-se às rotinas de identificação e antibiograma adotadas pelo laboratório. A seleção dos meios de cultura foram: Hemocult I<sup>®</sup>: (Pediátrico e Adulto)- indicado para uso geral, em que se recuperam microorganismos exigentes e não exigentes como *Neisseria* e *Haemophilus*; Hemocult II<sup>®</sup>: indicado para uso geral, em que se recuperam microorganismos tanto exigentes quanto não exigentes e, pelo fato de

incorporar o ácido para amino benzóico (PABA) em sua formulação, permite o uso em amostras de pacientes sob terapia por sulfas; Hemocult III<sup>®</sup>: tem seu uso indicado para isolamento de anaeróbios estritos, sendo recomendado particularmente para o transporte de amostras suspeitas de conter anaeróbios.

## **6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO**

Foram analisados o tempo médio de sobrevida, o número de sobreviventes de cada grupo e a curva de sobrevida. Para isso foram utilizados testes estatísticos, visando a comparar o tempo de sobrevida (Teste t de Student para amostras independentes), o número de sobreviventes (Teste exato de Fischer), a curva de sobrevida de “Kaplan Méier” e o teste de “Log Rank”, para analisar as curvas de sobrevida entre os cinco grupos de animais submetidos à peritonite fecal.

## 7 RESULTADOS

A laparotomia realizada seis horas após a indução da peritonite mostrou edema, hiperemia, aderências frouxas entre as alças, e secreção com aspecto purulento na cavidade peritoneal (Figura 3). Assim, foi confirmada a peritonite.

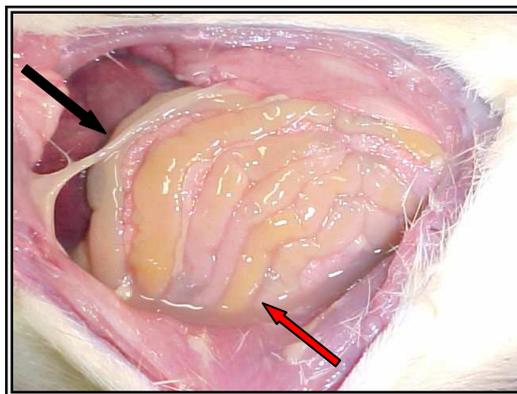


Figura 3 – Aderências frouxas entre alças e parede abdominal (seta preta) e secreção purulenta na cavidade peritoneal (seta vermelha).

As bactérias isoladas do líquido peritoneal por ocasião da laparotomia foram:

*Proteus mirabilis*, *Klebsiela pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus sp*, *Proteus penneri*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus species*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aerococcus viridans*. A sensibilidade dessas bactérias pode ser observada no quadro 1 (Anexo 2).

Os ratos que sobreviveram no pós-operatório imediato apresentavam-se dinâmicos e ingeriam alimentos. O exame da cavidade abdominal desses ratos mostrou aderências entre as alças intestinais e a parede abdominal (Figura 4). Os graus de aderências encontradas podem ser vistos na Tabela 1.



Figura 4 – Aderências entre alças intestinais e parede abdominal.

Tabela 1- Aderências peritoneais em ratos com peritonite fecal provocada por fezes do próprio animal.

Grupos	Grau de Aderências					
	0	1	2	3	4	5
Animais que sobreviveram (n=30)			14	16		
Animais que faleceram (n=30)	13	17				

\*Grau 0- ausência de aderências.

Grau 1- número reduzido de aderências, de caráter fibrinoso, facilmente desfeitas pela manipulação.

Grau 2- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças intestinais, porém não envolvendo a parede abdominal.

Grau 3- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e um órgão ou estrutura.

Grau 4- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e mais de um órgão ou estrutura.

Grau 5- aderências firmes, resistentes à manipulação, entre alças e entre alças e a parede abdominal com fístula entérica.

Modificado de Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junyor F, *et al*<sup>65</sup>

Os ratos que faleceram estavam adinâmicos, com piloereção, alguns com halo escuro em torno dos olhos, taquipnéicos e anoréticos. O exame da cavidade abdominal mostrava pouca secreção purulenta e aderências frouxas entre as alças intestinais. O exame da cavidade torácica mostrava pulmões congestionados e edemaciados (Figura 5).



Figura 5 - Animal de nº 10 do grupo 1 (controle), com incisão em forma de ferradura (u invertido), levantando-se o retalho para a parte cranial. Pulmões congestionados e edemaciados (seta).

A sobrevivência dos animais pode ser observada nas tabelas 2, 3 e 4 e na figura 6.

Tabela 2- Frequência de ratos que sobreviveram até o 11º PO após indução de peritonite.

Grupos	Óbito		p1	p2	p3	p4
	Não	Sim				
1- Controle	0	12				
2- Enxugamento	0	12	NS			
3- Lavagem com salina	6	6	0,01	0,01		
4- Lavagem com lidocaína	12	0	0,0000	0,0000	0,01	
5- Lavagem com bupivacaína	12	0	0,0000	0,0000	0,01	NS

Teste exato de Fisher:

p1- grupos 2,3,4 e 5 em relação ao grupo 1.

p2- grupos 3,4 e 5 em relação ao grupo 2.

p3- grupos 4 e 5 em relação ao grupo 3.

p4- grupo 5 em relação ao grupo 4. NS não significante; p1, p2, p3, p4. <0,05 significante.

Tabela 3-Tempo médio de sobrevivência em horas

Grupos	mA	DP	p1	p2	p3	p4
1- Controle	19,4	14,9				
2- Enxugamento	36,6	31,3	NS			
3- Lavagem com salina	138,3	106,4	0,002	0,006		
4- Lavagem com lidocaína	240,0	0,0	0,0000	0,0000		
5- Lavagem com bupivacaína	240,0	0,0	0,0000	0,0000	0,0000	NS

Teste t para amostras independentes. m.A- Média aritmética; DP- Desvio padrão.

P1- grupos 2,3,4 e 5 em relação ao grupo 1.

p2- grupos 3,4 e 5 em relação ao grupo 2.

p3- grupos 4 e 5 em relação ao grupo 3.

p4- grupo 5 em relação ao grupo 4.

NS não significante; p1, p2, p3, p4 . <0,05 significante.

Tabela 4 - Teste de “Log-Rank” para comparação das curvas de sobrevivência entre os cinco grupos de animais submetidos à peritonite fecal

Grupo	1- Controle	2- Enxugamento	3- Solução Salina	4 – Lidocaína
2- Enxugamento	0,283			
3 - Solução Salina	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>		
4 – Lidocaína	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	
5 - Bupivacaina	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	*

\*Não foi possível realizar o teste

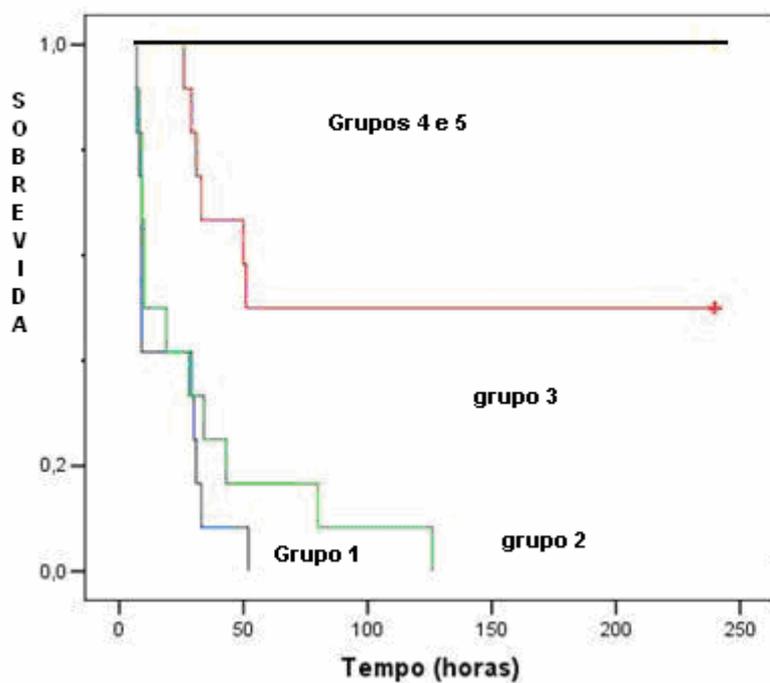


Figura 6 - Curva de sobrevivência de ratos submetidos à peritonite .

## 8 DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, a lavagem da cavidade abdominal com solução de lidocaína ou de bupivacaína evitou a morte dos animais portadores de peritonite, produzida por fezes do próprio rato até o período avaliado. Resultado semelhante foi observado quando se lavou a cavidade abdominal de ratos com antibiótico para tratar a peritonite por dose letal de *Escherichia coli*.<sup>56</sup> Esse fato não ocorreu quando a cavidade abdominal com peritonite não foi tratada (grupo controle), enxugada (grupo 2) e lavada com solução salina e enxugada (grupo 3). Cumpre ressaltar que no grupo 3, em que se fez lavagem da cavidade peritoneal com solução salina seguida de enxugamento, houve maior sobrevivência do que no grupo controle. Isto mostra que a lavagem foi benéfica nesse modelo de peritonite. Sabe-se que a lavagem peritoneal na peritonite é motivo de controvérsia. A lavagem peritoneal, no entanto, é utilizada por grande número de cirurgiões.<sup>56</sup> A lavagem peritoneal com solução fisiológica, em ratos com peritonite, provocou menor mortalidade comparada à simples limpeza da cavidade com compressa de gaze.<sup>39</sup> Nos grupos 4 e 5, quando se acrescentou anestésico local à solução salina, o resultado foi melhor. A solução com anestésicos locais foi mais eficaz para combater a peritonite do que a solução salina. O mecanismo pelo qual esses anestésicos combatem a peritonite consiste basicamente, no efeito antiinflamatório. Esse fato foi bem demonstrado com a utilização, por via subcutânea, em bomba de infusão contínua, da lidocaína a 5% e 10% e da bupivacaína a 1% e 2%, com diminuição da mortalidade em ratos com peritonite.<sup>17</sup> Além disso, os anestésicos locais se mostraram eficazes para modular a cascata inflamatória

na isquemia e na reperfusão do coração,<sup>8, 9</sup> do pulmão<sup>10,11</sup> e do fígado<sup>12, 13</sup> e foram capazes de exercer efeito antiinflamatório em vários tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e neutrófilos.<sup>14</sup> A lidocaína a 1% e a bupivacaína a 0,5% foram também capazes de prevenir a peritonite provocada por ácido clorídrico a 0,1 molar.<sup>15</sup> A ropivacaína atenuou a resposta inflamatória pulmonar por lipopolissacarídeo em ratos.<sup>57</sup> As medidas para tratar a sepse, embasadas no componente inflamatório, têm falhado em parte por causa da sua incapacidade de interagir no mecanismo da coagulação. A ativação da cascata da coagulação tem sido associada ao desenvolvimento da falência de sistemas e múltiplos órgãos e ao prognóstico ruim em pacientes sépticos. Isso provavelmente decorre da coagulação intravascular disseminada que compromete o fluxo sanguíneo vital para o órgão, resultando em falência orgânica e morte.<sup>58</sup> Nesta pesquisa, todos animais tratados com solução de anestésico local sobreviveram, assim, apesar de não ter sido feito a avaliação da coagulação, esta não pode ser descartada e novas pesquisas são necessárias.

Além do efeito antiinflamatório alguns anestésicos apresentam efeito bacteriostático contra algumas bactérias em laboratório.<sup>32, 34</sup> Além do possível efeito antiinflamatório dos anestésicos, há que se considerar que o enxugamento da cavidade abdominal nos grupos 3, 4 e 5 é também um mecanismo auxiliar no combate à peritonite, porque remove bactérias e toxinas.

Nos animais sobreviventes, a cavidade abdominal apresentava aderências mais intensas que nos animais que faleceram. Atribui-se às aderências a função de isolar os processos sépticos e proteger o organismo da

bacteremia. A inibição dessas aderências acompanha-se de maior mortalidade decorrente do processo séptico intra-abdominal generalizado.<sup>59</sup>

Cumprir assinalar que os animais do grupo-controle, e dos grupos 2 e 3 que faleceram, já apresentavam no pós-operatório imediato manifestações de sepse tais como taquipnéia, anorexia, adinamia, piloereção e halo escuro em torno dos olhos, com relatos idênticos em outro estudo.<sup>60</sup> Os animais que sobreviveram, estavam ativos e procuravam se alimentar. Os ratos que sobrevivem até o 10º dia não mais faleceram por peritonite, conforme verificado por dia em estudo piloto. Daí foram eutanasiados após esse período para estudo macroscópico da cavidade abdominal. O período de 10 dias foi utilizado como parâmetro para análise estatística da sobrevivência dos animais. Os diferentes grupos apresentaram semelhanças estatísticas em relação ao peso, idade, sexo e espécie, com o uso da mesma técnica e resultados de sobrevivência diferentes.

A dose de anestésico utilizada foi mínima, se considerarmos que a dose letal média ( LD<sub>50</sub> ) de lidocaína é de 111,0 mg/Kg a 133,1 mg/Kg e da bupivacaína 57,7 mg/Kg a 58,7 mg/Kg.<sup>61</sup> Na lavagem peritoneal, realizada após enxugamento da cavidade abdominal, procurou-se espalhar o anestésico manualmente na cavidade abdominal, para que esse fármaco tivesse o maior contato possível com todas as vísceras abdominais e, desse modo, pudesse agir mais amplamente. A solução anestésica foi mantida por três minutos na cavidade, para haver tempo de atuação. Enxugou-se a cavidade com movimentos suaves, evitando-se retirar todo o conteúdo da solução. Esse método foi satisfatório, uma vez que não houve óbito nos grupos 4 e 5 em que se utilizou anestésico.

Trabalhos poderão ser desenvolvidos para estudar outros anestésicos, nas mesmas doses, em outros modelos de peritonite, <sup>7</sup> associados ou não a outros recursos terapêuticos. Estudos poderão ser feitos para verificar o efeito de cada anestésico local nas bactérias causadoras de peritonite, na função dos órgãos e na reação inflamatória produzida antes e após a aplicação destes fármacos. Duas inquietações deixam o cirurgião em mais dúvidas: o grau de acometimento do peritônio e o real valor da lavagem peritoneal, ambos, na vigência de uma peritonite experimental.

Concluindo a lidocaína e a bupivacaína utilizadas na lavagem peritoneal aumentaram a sobrevida de ratos submetidos à peritonite fecal.

## 9 CONCLUSÃO

A lavagem peritoneal com 30 mg/kg de lidocaína ou com 8 mg/Kg de bupivacaína, foi eficaz para evitar o óbito em 100% dos animais com peritonite fecal.

.

## 10 REFERÊNCIAS <sup>1</sup>

1-Sands KE, Bates DW, Handen PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL *et al.* Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. JAMA. 1997; 278(3): 234-40.

2-Garrido AG, Figueiredo LFP, Rocha e Silva M. Modelos experimentais de sepse e choque séptico. Acta Cir Bras. 2004; 19(2): 82-88.

3-van der Poll T, van Deventer SJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. Infect Dis Clin North Am. 1999; 13(2): 413-26.

4-Araújo Filho I, Honorato Sobrinho AA, Rego AC, Garcia AC, Fernandes DP, Cruz TM, *et al.* Influence of laparoscopy and laparotomy on gasometry, leukocytes and cytokines in a rat abdominal sepsis model. Acta Cir Bras. 2006; 21(2): 74-9.

5-Dellinger RP. Inflammation and coagulation. Clin Infect Dis. 2003; 36(10): 1259-65.

6-Chalkiadis G, Kostakis A, Karayannacos PE, Giamarellou H, Dontas I, Sakellariou I, *et al.* The effect of heparin upon fibrinopurulent peritonitis in rats. Surg Gynecol Obstet. 1983; 157(3): 257-60.

7-Benjamin CF. Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. Medicina (Ribeirão Preto) 2001; 34(1): 18-26.

8-Strohm C, Barancik T, Bruhl ML, Kilian AS, Schaper W. Inhibition of the ER-kinase cascade by PD98059 and UO 126 counteracts ischemic preconditioning in pig myocardium. J Cardiovasc Pharmacol. 2000; 36(2): 218-29.

---

<sup>1</sup> As referências foram citadas conforme estabelecido pela convenção de Vancouver

9-Lee R, Nitta T, Schmid RA, Schuessler RB, Harris KM, Gay WA Jr. Retrograde infusion of lidocaine or L-arginine before reperfusion reduces myocardial infarct size. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65(5): 1353-9.

10-Das KC, Misra HP. Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med.* 2003; 49(1): 17-20.

11-Schmid RA, Yamashita M, Ando K, Tanaka Y, Cooper JD, Patterson GA. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann Thorac Surg.* 1996; 61(3): 949-55.

12-Tomori H, Shiraishi M, Koga H, Toure M, Taira K, Higa T, *et al.* Protective effects of lidocaine in hepatic ischemia/reperfusion injury in vitro. *Transplant Proc.* 1998; 30(7): 3740-2.

13-Chen MY, Li CH, Huang ZQ, Liu JC, Zhou NX, Huang XQ, *et al.* Protective effects of lidocaine injected into the hepatoduodenal ligament on warm ischemia- reperfusion injury to the rat liver. *Chin Med J.* 2004; 117(2): 275-9.

14-Hollmann MW, Durieux ME. Local anesthetics and the inflammatory response. *Anesthesiology.* 2000; 93(3): 858-75.

15-Rimbäck G, Cassuto J, Wallin G, Westlander G. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology.* 1988; 69(6): 881-6.

16-Walley KR, Lukacs NW, Standiford TJ, Strieter RM, Kunkel SL. Balance of inflammatory cytokines related to severity and mortality of murine sepsis. *Infect Immun.* 1996; 64(11): 4733-8.

17-Gallos G, Jones R Dean, Nasr H Samih, Emala W Charles, Lee Thomas H. Local anesthetics reduce mortality and protect against renal and hepatic dysfunction in murine septic peritonitis. *Anesthesiology.* 2004; 101(4): 902-11.

18-Rizk N, Barrat C, Faranda C, Catheline JM, Champault G. Laparoscopic treatment of generalized peritonitis with diverticular perforation of the sigmoid colon. *Chirurgie*. 1998; 123(4): 358-62.

19-Moberg AC, Berndsen F, Palmquist I, Peterson U, Resch T, Montgomery. A randomized clinical trial of laparoscopic versus open appendectomy for confirmed appendicitis. *Br J Surg*. 2005; 92(3): 298-304.

20-Bruwer F, Coetzer M, Warren BL. Laparoscopic versus open surgical exploration in premenopausal women with suspected acute appendicitis. *S Afr J Surg*. 2003; 41(4): 82-5.

21-Corsale I, Buccianelli E, Sorce S, Aloise F, Bartolomei M, Mori P, *et al*. Appendectomy laparoscopic versus open treatment. *Minerva Chir*. 2005; 60(1): 55-9.

22-Naess F. Laparoscopy and suspected acute appendicitis. *Tidsskr Norway Laegeforen*. 2005; 125(13): 1820-1.

23-Garcia Vasquez A, Cano Novillo I, Benavent Gordo MI, Delgado Munoz MD, Anton-Pacheco Sanchez J, Berchi Garcia FJ. Results of laparoscopic treatment of complicated appendicitis. *Cir Pediatr*. 2005; 18(1): 8-12.

24-Fabiani P, Barteis AM, Cursio R, Crafa F, Gugenheim J, Mouiel J. Laparoscopic treatment of appendiceal peritonitis in adults. *Ann Chir*. 1996; 50(10): 892-5.

25-Petrov VI, Lutsevisch OE, Begoulov SM. Low-intensity laser irradiation in the combined treatment of suppurative peritonitis. *Sov Med*. 1990; (3): 25-8.

26-Schein M, Saadia R, Decker G. Intraoperative peritoneal lavage. *Surg Gynec Obstet*. 1988; 166(2): 187-195.

27-Stewart DJ, Matheson NA. Peritoneal lavage in appendicular peritonitis. *Br J Surg.* 1978; 65(1): 54-6.

28-Behan RJ. Acute generalized suppurative peritonitis. Treatment by intra – abdominal lavage with ethyl alcohol. *Ann J Surg.* 1934: 28-34.

29-Coban E, Ozdogan M, Tuncer M, Bozcuk H, Ersoy F. The value of low-dose intraperitoneal immunoglobulin administration in the treatment of peritoneal dialysis-related peritonitis. *J Nephrol.* 2004; 17(3): 427-30.

30-Moukhtar M, Romnev S. Continuous intraperitoneal antibiotic lavage in the management of purulent sepsis of the pelvis. *Surg Gynecol Obstet.* 1980; 150(4): 548-50.

31-Marti MC, Moser G. Appendicular peritonitis. *Helv Chir Acta.* 1980; 47(3-4): 463-7

32-Aydin ON, Eyigor M, Aydin N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. *J Anaesthesiol.* 2001; 18(10): 687-94.

33-Olsen KM, Peddicord TE, Campbell GD, Rupp ME. Antimicrobial effects of lidocaine in bronchoalveolar lavage fluid. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 45 (2): 217-9.

34-Par AM, Zoutman DE, Davidson JS. Antimicrobial activity of lidocaine against bacteria associated with wound infection. *Ann Plast Surg.* 1999; 43(3): 239-45.

35-Aldous WK, Jensen R, Sieck BM. Cocaine and lidocaine with phenylephrine as topical anesthetics. *Ear Nose Throat.* 1998; 77(7): 554-7.

36-Salgado Jr W, Cunha FQ, Sankarankuty AS, Santos JS. Desenvolvimento de modelo de peritonite bacteriana para avaliação do tratamento mediante acesso laparotômico e vídeolaparoscópico. *Acta Cir Bras.* 2001; 16(1): 9-12.

37-Pross M, Shulz HU, Manger T, Kunz D, Mantke R, Halangk W, *et al.* Peritonitis models in the rat with special reference to laparoscopic therapy options. *Zentralbl Chir.* 1999; 124(8): 743-8.

38-Hau T. Biology and treatment of peritonitis. *J Am Coll Surg.* 1998; 186(4): 475-84.

39-Torres Martins JO, Macedo Lopes E, Melo de Monteiro CT, Costa Gonçalves VJ, Nunes Souza MP, Viana Melo MR, *et al.* Peritonite fecal em ratos. *Acta Cir Bras.* 1999; 14(2): 1-8.

40-Glover JL, Atkins P, Lempke RE. Evaluation of peritoneal lavage therapy for peritonitis. *J Surg Res.* 1969; 9(9): 531-4.

41-Schumer W, Lee DK, Jones B. Peritoneal lavage in postoperative therapy of later peritoneal sepsis. Preliminary report. *Surgery.* 1964; 55: 841-5.

42-Montravers P, Andremont A, Massias L, Carbon C. Investigation of the potential role of enterococcus faecalis in the pathophysiology of experimental peritonitis. *J Infect Dis.* 1994; 169(4): 821-30.

43-Rocha JJR, Aprili F, Santos Junior JCM, Guimarães AS. Tratamento da peritonite generalizada grave. *Rev Col Bras Cir.* 1986; 13(5): 218-23.

44-Saldivia C, Alejos R, Gilberto H. Peritonitis experimental em ratas y evaluación preliminar del tratamiento com lavado peritoneal y antibioticoterapia tópica. *Rev Venez Cir.* 2000; 53(2): 48-51.

45-Gilmore OJA. A reappraisal of the use of antiseptics in surgical practice. *Ann R Coll Surg Engl.* 1977; 59(2): 73-103.

46-Platt J, Jones RA, Bucknall RA. Intraperitoneal antiseptics in experimental bacterial peritonitis. *Br J Surj.* 1984; 71(8): 626-8.

47-Silva NL, Cardoso BM, Gondek LFJ, Esmanhotto BL, Sebastião MPA, Simões CJ. Peritonite aguda experimental em ratos. Rev Col Bras Cir. 1997; 25(2): 113-7.

48-Ness TL, Hogaboam CM, Strieter RM, Kunkel SL. Immunomodulatory role of CXCR2 during experimental septic peritonitis. J Immunol. 2003; 171(7): 3775-84.

49-Kayaalp C, Balkan M, Aydin C, Oner K. Comparison of primary colonic anastomosis and colostomy in experimental localized fecal peritonitis. Ulus Travma Derg. 2003; 9(3): 160-2.

50-Carneiro BGMC, Petroianu A, Rodrigues FHOC, Rocha RF. Estudo comparativo entre diversos tipos de tratamento para peritonite fecal em rato. Rev Col Bras Cir. 2001; 29(1): 43-8.

51-Tokar B, Gundogan AH, Ilhan H, Bildirici K, Gultepe M, Elbuken E. The effect of hyperbaric oxygen treatment on the inflammatory changes caused by intraperitoneal meconium. Pediatr Surg Int. 2003; 19(9-10): 673-6.

52-Mantovani M, Iazetti EP, Rizoli BS, Neto Capone A, Filho Basile A, Leonardi SL. Efeitos da oxigenioterapia hiperbárica na peritonite fecal experimental. Rev Col Bras Cir. 1989; 16(2): 84-6.

53-Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LM, *et al.* Procedimentos Experimentais. In: Princípios Éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação. São Paulo: CLR Balieiro Editores. 2004; 46- 69.

54-Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junior F, Silva GJ, Gomes HL. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritoniotomias com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. Arq Gastroenterol. 2004; 41(4): 245-9.

55-Sortini D, Feo CV, Maravegias K, Carcoforo P, Pozza E, Liboni A, *et al.* A. Role of peritoneal lavage in adhesion formation and survival rate in rats. *J Invest Surg.* 2006; 19(5): 291-7.

56-Whiteside OJ, Tytherleigh MG, Thrush S, Farouk R, Galland RB. Intra-operative peritoneal lavage- who does it and why? *Ann R Coll Surg Engl.* 2005; 87(4): 225-8.

57-Blumenthal S, Borgeat A, Pasch T, Reyes L, Booy C, Lambert M, *et al.* Ropivacaine decreases inflammation in experimental endotoxin-induced lung injury. *Anesthesiology.* 2006; 104(5): 961-9.

58- Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med.* 1999; 341 (8): 586-92.

59-Rodrigues FHOC, Carneiro BGMC, Rocha RF, Petroianu A. Inibição da formação de abscesso abdominal em rato. *Arq Gastroenterol.* 2005; 42(1): 50-4.

60-Guilgen GA, Czesko NG, Malafaia O, Simões JC. Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos. *Rev Col Bras Cir.* 1998; 25(1): 39-43.

61- De Jong RH, Bonin JD. Deaths from local anesthetic-induced convulsion in mice. *Anesth Analg.* 1980; 59(6): 401-5.

11 – ANEXOS:  
ANEXO 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS COMITÉ DE  
ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- CETEA -**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 144/2006**, reidtivo ao projeto intitulado "**Peritonite experimental em ratos - efeitos do tratamento local com lidocaina ou bupivacaina**", que tem como responsável **Alcino Lázaro da Silva**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação, Animal, adotados pelo **Comité de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **6/ 12/2006**,

Este certificado expira-se em **6/ 12 / 2011..**

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol nº 144/2006**, related to the project entitled "**Experimental peritonite in rats - effect of the focal treatment with lidocaina or bupivacaina**", under the supervision of **Alcino Lázaro da Silva**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **December 6, 2006**.

This certificate expires in **December 6, 2011**,

Belo Horizonte, 13 de Dezembro de 2006.

**Prof. Humberto Pereira Oliveira**  
Presidente do CETEA, UFMG

## 11. ANEXO 2

**Quadro 1- Bactérias isoladas da secreção peritoneal de ratos submetidos à peritonite fecal e respectiva sensibilidade ao antibiograma**

Bactéria isolada	Sensibilidade
<i>Proteus mirabilis</i>	Amicacina, amp/sulbactan, ampicilina, aztreonan, cefazolina, Cefotetan, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacina, Gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, cefepime.
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	Amicacina, amp/sulbactan, ampicilina, aztreonan, cefazolina, Cefotetan, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacina, gentamicina, Imipenem, levofloxacina, meropenem, cefepime
<i>Enterococcus faecalis</i>	Sinercid, tetraciclina, trimet/sulfa, vancomicina, gatifloxacina, Linezolida
<i>Escherichia coli</i>	Amicacina, amp/sulbactan, ampicilina, aztreonan, cefazolina, Cefotetan, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacina, Gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, cefepime.
<i>Micrococcus</i>	Amox/clav, amp/sulbactam, ampicilina, cefazolina, ceftriaxone, Ciprofloxacina, clindamicina, eritomicina, gentamicina, levofloxacina Nitrofurantoina, norfloxacina, oxacilina, penicilina, rifampicina
<i>Proteus penneri</i>	Amicacina, amp/sulbactan, ampicilina, aztreonan, cefazolina, cefepime, Cefotetan, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacina, Gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem.
<i>Enterococcus gallinarum</i>	Amox/clav, amp/sulbactam, ampicilina, cefazolina, ceftriaxone, Ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina, Nitrofurantoina, norfloxacina, oxacilina, penicilina, rifampicina
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Sinercid, tetraciclina, trimet/sulfa, vancomicina, gatifloxacina, Linezolida
<i>Bacillus species</i>	Sinercid, tetraciclina, trimet/sulfa, vancomicina, gatifloxacina, Linezolida
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sinercid, tetraciclina, trimet/sulfa, vancomicina, gatifloxacina, Linezolida
<i>Aerococcus viridans</i>	Sinercid, tetraciclina, trimet/sulfa, vancomicina, gatifloxacina, Linezolida
<i>Morganella morganii</i>	Amicacina, amp/sulbactan, ampicilina, aztreonan, cefazolina, Cefotetan, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacina, gentamicina, Imipenem, levofloxacina, meropenem, cefepime

## 11. ANEXO 3.

Brocco MC, Paulo DNS, Baptista JFA, Ferrari TA, Azevedo TCV, Silva AL. Effects of peritoneal lavage with lidocaine on survival of rats with fecal peritonitis. Acta Cir. Bras. vol.23 no.1, 2008.

Brocco MC, Paulo DNS, Baptista JFA, Carraretto AR, Ferrari TA, Silva AL. Efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal. Rev. Bras. Anesthesiol. vol.58 no.5, 2008.

**Efeito da lavagem peritoneal com solução de lidocaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal****Marcos Célio Brocco<sup>I</sup>; Danilo Nagib Salomão Paulo<sup>II</sup>; João Florêncio de Abreu Baptista<sup>I</sup>; Thiago Antunes Ferrari<sup>III</sup>; Thiago Caetano V. de Azevedo<sup>III</sup>; Alcino Lázaro da Silva<sup>IV</sup>**<sup>I</sup>Associate Professor, Anesthesiology, Federal University of Espírito Santo, Brazil<sup>II</sup>Full Professor of Surgery, School of Sciences, EMESCAM, Espírito Santo, Brazil<sup>III</sup>Graduate student, School of Sciences, EMESCAM, Espírito Santo, Brazil<sup>IV</sup>Emeritus Professor of Surgery, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Brazil[Correspondence](#)

---

**ABSTRACT****PURPOSE:** To study the effects of peritoneal lavage with a 2% lidocaine solution, on the survival of the rats submitted to peritonitis caused by their own feces.**METHODS:** Forty-eight Wistar rats, weighting between 300g and 330g (mean, 311,45 ±9,67g), were submitted to laparotomy 6 hours following induction of fecal peritonitis. Animals were randomly divided into four groups of 12 each as follows: 1- Control, no therapy; 2- Drying of the abdominal cavity; 3- Peritoneal lavage with saline and drying; 4- Peritoneal lavage with a 2% lidocaine solution and drying. Animals that died were submitted to necropsy and the time of their death recorded; survivors were killed on the post-operation 11<sup>th</sup> day and necropsied.**RESULTS:** Death occurred within 52 h in all animals of group 1; within 126 h in 100% of those of group 2; within 50 h in 50% of those of group 3. All animals of group 4 survived. Survival on the 11<sup>th</sup> day was higher in groups 3 and 4 than in groups 1 and 2 (p<0.001), and higher in group 4 than in group 3 (p<0.01).**CONCLUSION:** Peritoneal lavage with a 2% lidocaine saline solution without adrenaline, prevented the mortality of all animals with fecal peritonitis .

**Key words:** Peritonitis. Anesthesia/methods. Sepsis.

---

## RESUMO

**OBJETIVO:** Estudar o efeito da lavagem peritoneal com solução de lidocaína a 2% na sobrevivência de ratos com peritonite fecal por fezes autógenas.

**MÉTODOS:** Foram utilizados 48 ratos Wistar, pesando entre 300g e 330g (M.A 311,45 ±9,67) submetidos à laparotomia 6 horas após a indução de peritonite, distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: 1- (n=12) Controle, nenhum tratamento; 2- (n=12) Enxugamento da cavidade abdominal; 3- (n=12) Lavagem da cavidade abdominal com 3 ml de solução salina 0,9% e enxugamento; 4- (n=12) Lavagem da cavidade abdominal com 30 mg/Kg (± 0,5 mL) de lidocaína 2% ,sem adrenalina, e 2,5ml de solução salina 0,9% e enxugamento. Os animais que faleceram foram necropsiados e o horário do óbito anotado. Os sobreviventes foram mortos no 11º dia de pós-operatório e realizou-se a necropsia.

**RESULTADOS:** Houve 100% de mortalidade nos animais do grupo 1, em 52 horas; 100% nos animais do grupo 2, em 126 horas e 50% nos animais do grupo 3 em 50 horas. Os animais do grupo 4 sobreviveram. A sobrevivência, no 11º dia de pós-operatório, foi maior nos grupos 3 e 4 em relação aos grupos 1 e 2 ( p < 0,001) e maior nos grupos 4 que no grupo 3(p<0,01).

**CONCLUSÃO:** A lavagem peritoneal com lidocaína a 2% sem adrenalina e diluída em 2,5 ml de solução salina, foi eficaz para evitar o óbito, por 11 dias(eutanásia) em 100% dos animais com peritonite fecal .

**Descritores:** Peritonite. Anestesia/métodos. Sepse.

---

## Introduction

Despite all advances in the treatment of peritonitis, no decrease in mortality from that disease occurred over the last two decades.<sup>1</sup>

This mortality increases when multiple organ and systemic dysfunctions occur. Although not having a well-elucidated pathogeny, this dysfunction seems to be consequent to a complex inflammatory process. The septic response is associated with the release of anti-inflammatory and inflammatory cytokines<sup>2,3,4</sup>, followed by activation of leukocytes, complement and the coagulation cascade<sup>5</sup>, as well as antibody production and bacteria destruction by polymorphonuclear leukocytes.<sup>6</sup> Mediators like TNF alfa, IL-1 beta, IL-6, IL-8 and e NO, play fundamental roles in sepsis, and the anti-inflammatory mediators concomitantly present, modulate the effects and the release of inflammatory agents.<sup>7</sup>

Local anesthetics have shown to be efficient modulators of the inflammatory cascade in ischemia and heart<sup>8,9</sup>, lung<sup>10,11</sup> and liver reperfusion<sup>12,13</sup>. They are capable of performing an anti-inflammatory action on various cell types, including monocytes, macrophages and neutrophils<sup>14</sup>. Ropivacaine decreased the pulmonary inflammatory response evoked by a lipopolysaccharide in rats<sup>15</sup>. One percent lidocaine and 0.5% bupivacaine were shown to prevent peritonitis caused

by 0.1M hydrochloric acid, in comparison with saline<sup>16</sup>. Mice having septic peritonitis induced according to an experimental model<sup>17</sup>, treated with 5% or 10% lidocaine, or 1% or 2% bupivacaïne subcutaneously by an infusion pump, decreased mortality and protected rats from hepatic and renal hepatic dysfunction, by attenuating the hiperinflammatory response<sup>18</sup>. Some anesthetics furthermore, presented at the laboratory level, a bactericidal effect against some bacteria<sup>19, 20</sup>. Based on these aspects, we questioned whether intraperitoneal application of a local anesthetic dissolved in saline, could improve the survival of animals submitted to peritonitis. The present work was aimed at the verification of the effect on survival from fecal .peritonitis, of a 2% lidocaine saline solution without adrenaline (30 mg/Kg), placed in the abdominal cavity of rats.

## Methods

This work was approved by the Ethics Committee of Research of the Faculty of Medicine of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), according to protocol 144/06 (COEP-CETEA).

Forty-eight Wistar rats, weighting between 300g and 330g (mean, 311,45 ±9,67g), originating from the Animal House of the Superior School of Science of the Santa Casa de Misericórdia de Vitória-ES (EMESCAM), were anesthetized with KETAMIN-S(+) [S(+)] (ketamine hydrochloride 12,5mg/kg), and submitted to abdominal puncture with "abocath" 16G in the lower left quadrant of the abdomen, and weighted in an electronic balance (Filizola<sup>®</sup> São Paulo- Brasil) having a 1g sensitivity. Five ml of a suspension of 2g of recently defecated feces, diluted in 17ml of saline, were injected into the abdominal cavity, after having been filtered through gauze in order to permit free passing through the interior of the needle in the direction of the cavity. Six hours after peritonitis induction, animals were anesthetized with a mixture of xilazine hydrochloride (2,5mg/kg König. S. A. Argentina) and KETAMIN-S(+) [S(+)] ketamine hydrochloride, 25mg/kg, CRISTALIA<sup>®</sup>, Itapira, São Paulo, Brasil), and submitted to midline laparotomy of approximately 2 cm length, cavity examination, and collection of 0.5 ml of secretion for bacterioscopy and antibiogram culture. Animals were aleatorily distributed into 4 groups of 12 each as follows: 1-Controls, no therapy; 2- Drying of the abdominal cavity; 3- Peritoneal lavage with 3 ml 0.9% saline and drying; 4- Peritoneal lavage with 30 mg/kg (+/- 0.5 ml) of 2% lidocaine solution without adrenaline, 2.5 ml 0.9% saline and drying. In groups 3 and 4 the saline solution, with or without anesthetic, was left for three min in the cavity, and carefully manipulated between the abdominal viscera to let the anesthetic establish greater contact with the peritoneum and a more efficient action. The peritoneal fluid was then dried with gauze removing most of it, the abdominal wall sutured in two planes with "mononylon" 4-0, simple sewing. On the first plane, the aponeurotic muscles and on the second, the skin were sutured. All animals were subcutaneously rehydrated with a single dose of 10 ml of 0.9% saline every 24 h, for two days. Analgesia was applied by subcutaneous 0.1 mg /Kg nalbuphine hydrochloride every 8 hours for two days.

Animals that had died, were submitted to necropsy, and the time of their death, recorded. Survivors were sacrificed by intraperitoneally-injected 50 mg/Kg of sodium pentobarbital on the 11<sup>th</sup> day post-operation. Secretion at infection sites were collected from the abdominal cavity, for bacteriological examination. Adherences were classified into six grades according to Diogo-Filho *et al*<sup>21</sup>: grade 0- absence; grade 1- a reduced number of adherences of fibrous character, easily disintegrated by manipulation; grade 2- firm adherences resistant to manipulation,

located between intestinal loops but not involving the abdominal wall; grade 3- firm adhesions, resistant to manipulation, between the abdominal wall and an abdominal organ or structure; grade 4- firm adhesions, resistant to manipulation, located between the abdominal wall and more than one organ or structure; grade 5- firm adhesions, resistant to manipulation, found between loops and between loops and the abdominal wall, showing an enteric fistula.

Survival frequencies were analyzed by exact Fisher test comparisons between number of survivals per group, and Kaplan Meier survival curves by the Log Rank test. The Kruskal-Wallis analysis of variance was utilized to compare body weights of the 4 animal groups. A value of  $p < 0.05$  was considered significant.

## Results

Laparotomy performed 6 hours following abdominal puncture and injection of a suspension of the recently defecated feces, showed edema, hyperemia between loops and secretion of purulent fluid in the abdominal cavity.

The bacteria isolated from the peritoneal fluid on laparotomy were respectively:

*Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Proteus penneri*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus species*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aerococcus viridans*. Their sensitivities to antibiotics are shown on [Chart 1](#).

**CHART 1 - Bacteria isolated from the peritoneal secretion of rats submitted to fecal peritonitis and their**

Bacteria isolated	Sensitivity
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Amicacin, amp/sulbactam, ampicillin, aztreonam, ceftazolin, Cefotetan, ceftiazoxone, cefuroxime, ciprofloxacin, gentamicin, Imipenem, levofloxacin, meropenem, cefepime
<i>Enterococcus faecalis</i>	Synercid, tetracycline, trimeth/sulfa, vancomycin, gatifloxacin, Linezolid
<i>Escherichia coli</i>	Amicacin, amp/sulbactam, ampicillin, aztreonam, ceftazolin, Cefotetan, ceftazidime, ceftiazoxone, cefuroxime, ciprofloxacin, Gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, cefepime.
<i>Micrococcus</i>	Amox/clav, amp/sulbactam, ampicillin, ceftazolin, ceftiazoxone, Ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, levofloxacin, Nitrofurantoin, norfloxacin, oxacilin, penicilin, rifampin
<i>Proteus penneri</i>	Amicacin, amp/sulbactam, ampicillin, aztreonam, ceftazolin, cefepime, Cefotetan, ceftazidime, ceftiazoxone, cefuroxime, ciprofloxacin, Gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem.
<i>Enterococcus gallinarum</i>	Amox/clav, amp/sulbactam, ampicillin, ceftazoline, ceftiazoxone, Ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, Nitrofurantoin, norfloxacin, oxacilin, penicilin, rifampin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Synercid, tetracycline, trimeth/sulfa, vancomycin, gatifloxacin, Linezolid
<i>Bacillus species</i>	Synercid, tetracycline, trimeth/sulfa, vancomycin, gatifloxacin, Linezolid
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Synercid, tetracycline, trimeth/sulfa, vancomycin, gatifloxacin, Linezolid
<i>Aerococcus viridans</i>	Synercid, tetracycline, trimeth/sulfa, vancomycin, gatifloxacin, Linezolid
<i>Morganella morganii</i>	Amicacin, amp/sulbactam, ampicillin, aztreonam, ceftazoline, Cefotetan, ceftiazoxone, cefuroxime, ciprofloxacin, gentamicin, Imipenem, levofloxacin, meropenem, cefepime

amp- ampicillin; trimeth- trimethoprim; amox- amoxiciline; kclav- clavulin

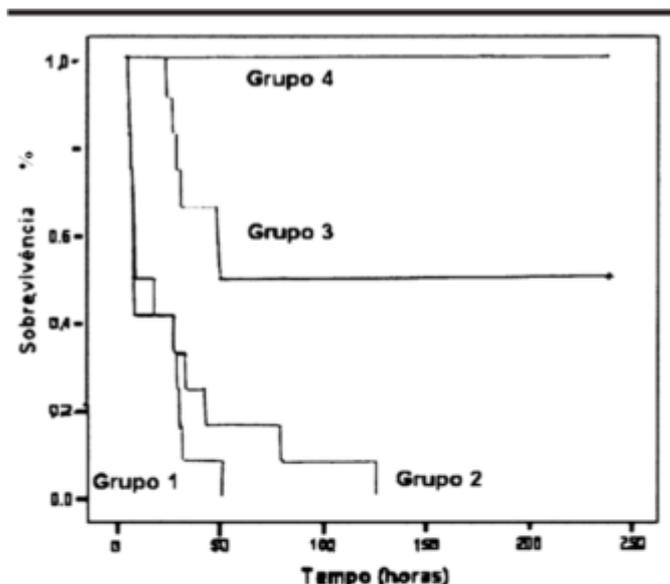
No significant differences between the weights of the 4 groups ( group 1- 313, 3 ± 11,5; group 2- 315,0± 11,7 ; group 3- 307,5± 4,5; group 4- 310,0±8,5 (p=0,36),were apparent.

Rats surviving the operation were dynamic and ingested liquid food. Examination of their abdominal cavity showed 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> degree adherences between intestinal loops and the abdominal wall. Rats that died were adynamic, with piloerection, a dark halo around the eyes, tachypneic and anorectic. Examination of their abdominal cavity showed slight purulent secretion and loose adherences of 0 and first degree between intestinal loops.

Survival was more frequent in group 4 animals in relation to those of group 3 (p<0.01) and of groups 2 and 1 (p<0.001) ([Table 1](#)). The survival curves show 100% mortality within 52 hours among animals of group 1, 100% within 126 hours, among animals of group 2, and 50% within 50 hours in animals of group 3. Animals of group 4 survived beyond 11 days. The Log Rank test showed that a significant increase occurred in the survival curve of group 4 relative to group 3 ( p<0.01 ), of group 4 in relation to groups 2 and 1( p<0.001 ), of group 3 relative to 1 p<0.001), and no difference between groups 1 and 2 ([Figure 1](#)).

**TABLE 1** - Rats that survived up to the 11<sup>th</sup> day P.O \* following peritonitis induction, submitted to laparotomy followed by respectively : no treatment (group 1-control), drying of the abdominal cavity( group 2); washing of the abdominal cavity with 3 ml of 0.9% saline and drying (group 3); washing of the abdominal cavity with 30 mg/Kg( $\pm$  0,5 mL) of 2% lidocaine, without adrenaline, and with 2.5ml of 0.9% saline and drying( group 4)

Groups	No		Death*		
	No	Yes	p1	p2	p3
1- Control	0	12			
2- Drying	0	12	NS		
3- Washing with saline	6	6	0,01	0,01	
4- Washing with Lidocaine	12	0	0,0000	0,0000	0,01
Total	30	30			



**FIGURE 1** - Survival curve of rats submitted to peritonitis and to laparotomy, followed respectively, by: no treatment (group 1-control), drying of the abdominal cavity( group 2); washing of the abdominal cavity with 3 ml of 0.9% saline and drying (group 3); washing of the abdominal cavity with 30 mg/Kg( $\pm$  0,5 mL) of 2% lidocaine, without adrenaline, and with 2.5ml of 0.9% saline and drying( group 4). Log Rank test .  $p < 0.05$  between group 4 in relation to groups 3, 2 and 1, and group 3 relative to 1

## Discussion

Washing of the abdominal cavity with a 2% lidocaine solution without adrenaline, avoided death of rats submitted to peritonitis caused by their own feces. A similar value had been observed when the peritoneal cavity was washed with an antibiotic to treat peritonitis caused by a lethal dose of *Escherichia coli*.<sup>22</sup> This result did not occur when the abdominal cavity was not treated (control group) ou even when it was aspirated (group 2), or aspirated and washed with saline (group 3). It is worth pointing out that in group 3 in which cavity aspiration was followed by peritoneal washing with saline, survival was higher than in the control group. This shows that washing was beneficial in our model. Nevertheless, it is known that peritoneal washing in peritonitis is a controversial issue. although peritoneal washing is utilized by a large number of surgeons<sup>23</sup>. Peritoneal washing with physiological saline of peritonitic rats, evoked lower mortality compared to plain cleaning of the cavity with compresses<sup>24</sup>. In group 4 rats, when the local anesthetic was added to the saline, a better result was obtained, indicating that the solution with the local anesthetics was more efficient against peritonitis than saline alone. The mechanism by which anesthetics act in these cases is probably, basically, anti-inflammatory. This was well demonstrated by the utilization via the subcutaneous route of a pump for continuous infusions of 5% and 10% lidocaine, or 1% and 2%, bupivacaine respectively, that led to decreased mortality of peritonitic rats<sup>18</sup>. Furthermore, local anesthetics had been shown to be efficient in modulating the inflammatory

cascade in heart<sup>8,9</sup>, lung<sup>10,11</sup>, and liver<sup>12,13</sup> ischemia and reperfusion, and were able to exert an anti-inflammatory effect on various cell types including monocytes, macrophages and neutrophils<sup>14</sup>. 1% lidocaine and 0,5% bupivacaine were also able to prevent peritonitis caused by 0.1M hydrochloric acid. Ropivacaine attenuated the inflammatory pulmonary response to lipopolysaccharides in rats<sup>15</sup>. Means to treat sepsis based on the inflammatory component have failed, partly due to their lack of ability to affect the components of the coagulation process. The activation of the cascade of coagulation, has been associated with the progressive failure of multiple organs and systems and the poor prognosis for septic patients. This is probably a consequence of disseminated intravascular coagulation that affects vital blood flow to organs, resulting their failure and death<sup>25</sup>. In this research this fact was not important in the animals treated with the local anesthetic, since all survived.

Besides their anti-inflammatory effect, some anesthetics present bactericide action against some bacteria at the laboratory level<sup>19, 20</sup>. In this experiment, the test of sensitivity of bacteria isolated from the abdominal cavity of the rats was not done because in a pilot study it was not defined whether lidocaine presented bacteriostatic or bactericide effects. Besides the possible anti-inflammatory effect of the anesthetics, it must be considered that the aspiration of the abdominal cavity in group 4 is also a mechanism of combat of peritonitis since it removes bacteria and toxins.

In surviving animals, the abdominal cavity presented more intense adhesions than in those that died. The function of isolating septic processes and protecting the organism from bacteremia has been attributed to the adhesions. Their inhibition is accompanied by higher mortality consequent to a generalized intra-abdominal septic process<sup>26</sup>.

It is worth noting that animals from the control group and from the controls of groups 2 and 3 that died, presented in the immediate post-operative stage, manifestations of sepsis, including tachypnea, anorexia, adynamic behavior, piloerection and a dark halo around the eyes, as already related<sup>27</sup>. Surviving animals on the other hand, were active and searched for food. It is important to recall that rats that survived until the 10<sup>th</sup> day, did not die from peritonitis, as could be verified in pilot studies in which they were sacrificed after this period for macroscopic examination of the abdominal cavity. This ten day period was utilized as the parameter for the statistical analysis of survival. Considering that there was no statistically significant difference between animal weights in the 4 study groups, that the animals were of the same gender and species, and that the same technique of peritonitis was employed, one can in a certain way set up survival comparisons between the different groups.

The dose of the anesthetic utilized was minimal when compared with the mean lethal dose (LD<sub>50</sub>) of lidocaine, of 111,0 to 133,1 mg/Kg<sup>28</sup>. In the peritoneal washing performed following aspiration, the anesthetic was manually spread within the cavity, to insure that the drug had the greatest possible contact with all viscera, to in this way act more amply. The anesthetic solution was made to remain about 3 min in the cavity in order to have sufficient time to act; for aspiration it was tried to dry the cavity with gentle moving, avoiding to remove all of the solution. This method was satisfactory, since no death occurred in group 4, in which the anesthetic was utilized. Further work for the study of other anesthetics at the same doses in other peritonitis models<sup>7, 29</sup>, associated or not with other therapeutic resources, could be developed. The effect of each local anesthetic on bacteria-evoking peritonitis, on the function of organs and on the inflammatory reaction prior to and after the application of these drugs, can be the object of future studies. Two worries leave doubts in the surgeon's mind: the degree of involvement of the

mesothelial cells (peritoneum), and the real value of the peritoneal washing during experimental peritonitis.

## Conclusion

Peritoneal washing with a 2% lidocaine solution without adrenaline, diluted in 2.5 ml saline, was effective in avoiding death in 100% of rats with fecal peritonitis.

## References

1. Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL, Parsonnet J, Panzer R, Orav EJ, Snyderman DR, Black E, Schwartz JS, Moore R, Johnson BL Jr, Platt R. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Am Med Assoc.* 1997; 278: 23-40. [ [Links](#) ]
2. Garrido AG, Figueiredo LFP, Rocha e Silva M. Modelos experimentais de sepse e choque séptico: revisão. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(2): 1-14. [ [Links](#) ]
3. Van der Poll T, van Deventer SHJ: Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am.* 1999; 13: 413-28. [ [Links](#) ]
4. Araújo Filho I, Honorato Sobrinho AA, Rego AC, Garcia AC, Fernandes DP, Cruz TM, Costa TC, Medeiros AC. Influence of laparoscopy and laparotomy on gasometry, leukocytes and cytokines in a rat abdominal sepsis model. *Acta Cir Bras.* 2006 ;21(2):74-9. [ [Links](#) ]
5. Dellinger RP. Inflammation and coagulation: implication for the septic patient. *Clin Infect Dis.* 2003; 36: 1259-65. [ [Links](#) ]
6. Chalkiadis G, Kostakis A, Karayannacos PE, Giamarellou H, Dontas I, Sakellariou I, Shalkeas GD. The effect of heparin upon fibrinopurulent peritonitis in rats. *Surg Gynecol Obstet.* 1983; 157: 257-60 . [ [Links](#) ]
7. Benjamin CF. Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. *Medicina Ribeirão Preto.* 2001; 34: 18-26. [ [Links](#) ]
8. Strohm C, Barancik T, Bruhl ML, Kilian AS, Schaper W. Inhibition of the ER-kinase cascade by PD98059 and UO 126 counteracts ischemic preconditioning in pig myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000; 36: 218-22. [ [Links](#) ]
9. Lee R, Nitta T, Schmid RA, Schuessler RB, Harris KM, Gay WA Jr. Retrograde infusion of lidocaine or L-arginine before reperfusion reduces myocardial infarct size. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65: 1353-9. [ [Links](#) ]
10. Das KC, Misra HP. Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med.* 2003; 49: 17-20. [ [Links](#) ]

11. Schmid RA, Yamashita M, Ando K, Tanaka Y, Cooper JD, Patterson GA. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann Thorac Surg.* 1996; 61: 949-55. [ [Links](#) ]
12. Tomori H, Shiraishi M , Koga H, Toure M, Taira K, Higa T, Okuhama Y, Hiroyasu S, Muto Y. Protective effects of lidocaine in hepatic ischemia/reperfusion injury in vitro. *Transplant Proc.* 1998; 30: 3740-2. [ [Links](#) ]
13. Chen MY, Li CH, Huang ZQ, Liu JC, Zhou NX, Huang XQ, et al. Protective effects of lidocaine injected into the hepatoduodenal ligament on warm ischemia-reperfusion injury to the rat liver. *Chin Med J (Engl).* 2004; 117(2): 275-9. [ [Links](#) ]
14. Hollmann MW, Durieux ME: Local anesthetics and the inflammatory response: A new therapeutic indication. *Anesthesiology.* 2000; 93: 858-75. [ [Links](#) ]
15. Blumenthal S, Borgeat A, Pasch T, Reyes L, Booy C, Lambert M, Schimmer RC, Beck-Schimmer B. Ropivacaine decreases inflammation in experimental endotoxin-induced lung injury. *Anesthesiology.* 2006; 104: 961-9. [ [Links](#) ]
16. Rimbäck G, Cassuto J, Wallin G, Westlander G. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology.* 1988; 69(6):881-6. [ [Links](#) ]
17. Walley KR, Lukacs NW, Standiford TJ, Strieter RM, Kunkel SL. Balance of inflammatory cytokines related to severity and mortality of murine sepsis. *Infect Immun.* 1996; 64:4733-8. [ [Links](#) ]
18. Gallos G, Jones DR, Nasr SH, Emala CW, Lee HT . Local anesthetics reduce mortality and protect against renal and hepatic dysfunction in murine septic peritonitis. *Anesthesiology.* 2004; 101:902-11. [ [Links](#) ]
19. Aydin ON, Eyigor M, Aydin N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. *J Anaesthesiol.* 2001; 18(10): 687-94. [ [Links](#) ]
20. Par AM, Zoutman DE, Davidson JS. Antimicrobial activity of lidocaine against bacteria associated with wound infection. *Ann Plast Surg.* 1999; 43(3): 239-45. [ [Links](#) ]
21. Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junyor F, Silva GJ, Gomes HL. Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritoniotomias com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. *Arq Gastroenterol.* 2004; 41(4): 245-9. [ [Links](#) ]
22. 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. [ [Links](#) ]
23. Whiteside OJ, Tytherleigh MG, Thrush S, Farouk R, Galland RB. Intra-operative peritoneal lavage- who does it and why? *Ann R Coll Surg Engl.* 2005; 87(4): 225-8. [ [Links](#) ]

24. Torres OJM, Macedo EL, Melo TCM, Costa JVG, Nunes PMS, Viana RMM, Dietz UA. Peritonite fecal em ratos: eficácia da lavagem peritoneal com solução de cloreto de sódio a 0,9%. *Acta Cir Bras.* 1999; 14(2): 65-8. [ [Links](#) ]
25. Levi M, Tem Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med.* 1999; 341 (8): 586-92. [ [Links](#) ]
26. Rodrigues FHOC, Carneiro BGMC, Rocha RF, Petroianu A. Inibição da formação de abscesso abdominal em rato: mortalidade por sepse. *Arq Gastroenterol.* 2005; 42(1): 50-4. [ [Links](#) ]
27. Guilgen GA, Czesko NG, Malafaia O, Simões JC. Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos-estudo experimental em ratos. *Rev Col Bras Cir.* 1998; 25: 39-43. [ [Links](#) ]
28. De Jong RH, Bonin JD. Deaths from local anesthetic-induced convulsion in mice. *Anesth Analg.* 1980; 59(6): 401- 5. [ [Links](#) ]
29. Nassif LS, Repka JCD, Nassif ACT, Branco Filho AJ, Orlandoski M. Efeitos da esplenectomia na peritonite causada por lesão traumática do cólon: estudo em ratos. *Rev Assoc Med Bras.* 2004; 50(3): 268-71. [ [Links](#) ]

## Acknowledgment

To the Department for Support of Clinical and Experimental Research of the Institute for Sustainable Development (Instituto Solidário do Espírito Santo), for financial support.

### Correspondence:

Marco Célio Brocco  
Rua Pedro Luis Zanandréa, 55  
29065-610 Vitória – ES Brazil  
Phone: (55 27)3325-7300  
[mcbrocco@unimedvitoria.com.br](mailto:mcbrocco@unimedvitoria.com.br)

Received: August 23, 2007  
Review: October 22, 2007  
Accepted: November 20, 2007  
Conflict of interest: none  
Financial source: In acknowledgment

1 Research performed at the Laboratory of the Division of Surgical Principles, Department of Surgery, School of Science, Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), Espírito Santo, Brazil.

11.3.2. Revista Brasileira de Anestesiologia.

**Print ISSN 0034-7094**

**Rev. Bras. Anesthesiol. vol.58 no.5 Campinas Sept./Oct. 2008**

**doi: 10.1590/S0034-70942008000500005**

**ARTIGO CIENTÍFICO**

## **Efeito da lavagem peritoneal com bupivacaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal<sup>\*</sup>**

## **Efecto del lavado peritoneal con bupivacaína en la sobrevida de ratones con peritonitis fecal**

**Marcos Célio Brocco, TSA<sup>I</sup>; Danilo Nagib Salomão Paulo<sup>II</sup>; João Florêncio de Abreu Baptista<sup>III</sup>; Antônio Roberto Carraretto, TSA<sup>IV</sup>; Thiago Antunes Ferrari<sup>V</sup>; Thiago Caetano V. de Azevedo<sup>V</sup>; Alcino Lázaro da Silva<sup>VI</sup>**

<sup>I</sup>Professor Adjunto IV de Anestesiologia da UFES; Mestrando em Cirurgia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

<sup>II</sup>Professor Titular de Cirurgia da EMESCAM

<sup>III</sup>Professor Adjunto IV de Anestesiologia da UFES, Mestre em Cirurgia pela UFMG; Anestesiologista do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes - Vitória, ES

<sup>IV</sup>Professor de Anestesiologia da UFES, Mestre em Anestesiologia pela Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP; Responsável CET Integrado HUCAM-HAFPES

<sup>V</sup>Estudante do 10º período do Curso de Medicina da EMESCAM

<sup>VI</sup>Professor Emérito de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG

[Endereço para correspondência](#)

---

## RESUMO

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** Com base nos conhecimentos sobre a ação antiinflamatória e antibacteriana dos anestésicos locais (AL) o estudo teve como objetivo determinar o efeito da lavagem peritoneal com solução de bupivacaína na sobrevida de ratos com peritonite fecal por fezes autógenas.

**MÉTODO:** Foram utilizados 48 ratos da linhagem Wistar, com peso entre 300 g e 330 g ( $311,45 \pm 9,67$ ), submetidos à laparotomia seis horas após a indução de peritonite, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: 1 - Controle, nenhum tratamento (n = 12); 2 - Enxugamento da cavidade abdominal (n = 12); 3 - Lavagem da cavidade abdominal com 3 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento (n = 12); 4 - Lavagem da cavidade abdominal com 8 mg.kg<sup>-1</sup> ( $\pm 0,5$  mL) de bupivacaína 0,5%, adicionada a 2,5 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento (n = 12). Os animais que faleceram foram necropsiados e o horário do óbito foi anotado. Os animais sobreviventes foram mortos no 11<sup>o</sup> dia do pós-operatório e realizou-se a necropsia.

**RESULTADOS:** Houve 100% de mortalidade nos animais do Grupo 1, em 52 horas, 100% nos animais do Grupo 2, em 126 horas e 50% nos animais do Grupo 3 em 50 horas. Os animais do Grupo 4 sobreviveram. A sobrevida, no 11<sup>o</sup> dia de pós-operatório, foi maior nos grupos 3 e 4 com relação aos grupos 1 e 2 ( $p < 0,001$ ) e maior nos Grupo 4 com relação ao Grupo 3 ( $p < 0,01$ ).

**CONCLUSÕES:** A lavagem peritoneal com solução de bupivacaína diluída em solução fisiológica foi eficaz para evitar o óbito, por 11 dias, em 100% dos animais com peritonite fecal.

**Unitermos:** ANESTÉSICO, Local: bupivacaína; ANIMAIS: ratos; COMPLICAÇÕES, Infecção: peritonite.

---

## RESUMEN

**JUSTIFICATIVA Y OBJETIVOS:** Basados en los conocimientos sobre la acción antiinflamatoria y antibacteriana de los anestésicos locales (AL), el estudio tuvo el objetivo de verificar el efecto del lavado peritoneal con solución de bupivacaína en la sobrevida de ratones con peritonitis fecal por heces autógenas.

**MÉTODO:** Se usaron 48 ratones de la raza Wistar, con peso entre 300 g y 330 g ( $311,45 \pm 9,67$ ), sometidos a la laparotomía 6 horas después de la inducción de peritonitis, distribuidos aleatoriamente en 4 grupos: 1 - Control, ningún tratamiento (n = 12); 2 - Secado de la cavidad abdominal (n = 12); 3 - Lavado de la cavidad abdominal con 3 mL de solución fisiológica a 0,9% y secado (n = 12); 4 - Lavado de la cavidad abdominal con 8 mg.kg<sup>-1</sup> ( $\pm 0,5$  mL) de bupivacaína 0,5%, adicionada a 2,5 mL de solución fisiológica a 0,9% y secado (n = 12). Los animales que murieron fueron llevados a necropsia y el horario del óbito se anotó. Los animales sobrevivientes se sacrificaron al 11<sup>o</sup> día del postoperatorio y se realizó la necropsia.

**RESULTADOS:** Hubo un 100% de mortalidad en los animales del Grupo 1 en 52 horas, 100% en los animales del Grupo 2, en 126 horas y un 50% en los animales del Grupo 3 en 50 horas. Los animales del Grupo 4 sobrevivieron. La sobrevida, al 11<sup>o</sup> día del postoperatorio, fue mayor en los grupos 3 y 4 con relación a los grupos 1 y 2 ( $p < 0,001$ ) y mayor en los Grupo 4 con relación al Grupo 3 ( $p < 0,01$ ).

**CONCLUSIONES:** El lavado peritoneal con solución de bupivacaína diluida en

solución fisiológica fue eficaz para evitar el óbito, por 11 días, en un 100% de los animales con peritonitis fecal.

---

## INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços no tratamento da peritonite não houve, nas duas últimas décadas, diminuição da mortalidade por essa doença <sup>1</sup>. A mortalidade aumenta quando ocorre disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. Essa disfunção, embora não tenha patogenia bem elucidada, parece ser decorrente de processo inflamatório complexo. A resposta séptica é associada à liberação de citocinas antiinflamatórias e inflamatórias <sup>2-4</sup> com subsequente ativação dos leucócitos, complemento e da cascata da coagulação <sup>5</sup>, além da produção de anticorpos e da destruição bacteriana por polimorfonucleares <sup>6</sup>. Os mediadores, como TNF-alfa, interleucinas (IL-1 beta, IL-6 e IL-8) e óxido nítrico (NO), desempenharam papéis fundamentais na sepse e os mediadores antiinflamatórios estão presentes concomitantemente modulando os efeitos e a liberação dos mediadores inflamatórios <sup>7</sup>.

Os anestésicos locais têm se mostrado eficazes para modular a cascata inflamatória na isquemia e reperfusão do coração <sup>8,9</sup>, do pulmão <sup>10,11</sup> e do fígado <sup>12,13</sup>. São capazes de exercer efeito antiinflamatório em vários tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e neutrófilos <sup>14</sup>. A ropivacaína diminuiu a resposta inflamatória pulmonar que foi provocada por lipopolissacarídeo em ratos <sup>15</sup>. A lidocaína a 1% e a bupivacaína a 0,5% mostraram-se eficazes na prevenção da peritonite induzida por ácido clorídrico a 0,1 M, com relação à solução fisiológica a 0,9% <sup>16</sup>. Camundongos com peritonite séptica induzida segundo modelo experimental <sup>17</sup>, tratados com lidocaína a 5% e a 10% e bupivacaína a 1% e a 2%, por via subcutânea, com bomba de infusão, apresentaram diminuição da mortalidade e proteção contra disfunções hepáticas e renais, por atenuar a resposta hiperinflamatória <sup>18</sup>. Além disso, alguns anestésicos apresentam efeito bactericida contra algumas bactérias *in vitro* <sup>19,20</sup>. Com base nesses estudos questionou-se se a aplicação intraperitoneal de anestésico local poderia interferir na sobrevivência de animais com peritonite. Realizou-se o presente estudo com o objetivo de verificar os efeitos de solução de bupivacaína aplicada na cavidade abdominal em ratos com peritonite fecal induzida.

## MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), de acordo com o protocolo nº 144/06 (COEP-CETEA).

Foram utilizados 48 ratos pertencentes à linhagem Wistar, com peso entre 300 g e 330 g ( $311,45 \pm 9,67$ ), provenientes do Biotério da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES (EMESCAM).

Os animais foram anestesiados com cloridrato de S(+) cetamina  $12,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , submetidos à punção abdominal com cateter calibre 16G, no quadrante inferior esquerdo do abdome e pesados em balança eletrônica, com sensibilidade de 1 g. A peritonite foi induzida pela injeção, na cavidade abdominal, de  $5 \text{ mL.kg}^{-1}$  de peso, da suspensão que foi preparada com 2 g de fezes recém-defecadas diluída em 17 mL de solução de cloreto de sódio a 0,9% (solução salina) e filtrada em compressa de gaze, a fim de permitir a sua livre passagem pelo interior da agulha. Seis horas após a indução da peritonite, os ratos foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de xilazina  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  com cloridrato de S(+) cetamina  $25 \text{ mg.kg}^{-1}$  e submetidos à laparotomia mediana com cerca de 2 cm de comprimento, exame da cavidade, colheita de 0,5 mL da secreção para bacterioscopia, cultura e antibiograma. Nessa ocasião, foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos ([Tabela I](#)).

**Tabela I – Procedimentos Realizados nos Diferentes Grupos**

Grupo	Procedimento Realizado
1 (n = 12)	Nenhum tratamento
2 (n = 12)	Enxugamento da cavidade abdominal
3 (n = 12)	Lavagem da cavidade abdominal com 3 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento
4 (n = 12)	Lavagem da cavidade abdominal com $8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ( $\pm 0,5 \text{ mL}$ ) de bupivacaína 0,5%, sem adrenalina, e 2,5 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento

No Grupo 3 foram aplicados 3 mL de solução fisiológica à 0,9%. No Grupo 4 foi aplicada uma solução contendo  $8 \text{ mg.kg}^{-1}$  de bupivacaína a 0,5% ( $\pm 0,5 \text{ mL}$ ) adicionada a 2,5 mL de solução fisiológica à 0,9%, com um volume de cerca de 3 mL.

Nos grupos 3 e 4, a solução fisiológica, com ou sem anestésico, foi deixada por três minutos na cavidade. Nesse período, a solução foi manipulada cuidadosamente entre as vísceras abdominais para permitir um maior contato com o peritônio. A seguir, o líquido peritoneal foi enxugado com compressa de gaze para retirar a maior quantidade possível. A parede abdominal foi suturada em dois planos com fio de náilon monofilamento, de espessura 4-0, em chuleio simples. Foi suturado o plano musculoaponeurótico seguido da pele. No pós-operatório todos os animais foram hidratados com 10 mL de solução fisiológica a 0,9% em dose única, por via subcutânea, a cada 24 horas, por dois dias. A analgesia foi feita com cloridrato de nalbufina  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , por via subcutânea, de oito em oito horas, por dois dias.

Os animais que foram ao óbito foram necropsiados e o horário do óbito foi anotado. Os animais sobreviventes foram mortos no 11<sup>o</sup> dia de pós-operatório, para estudo, com a injeção  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$  de pentobarbital sódico na cavidade abdominal. Nessa ocasião, foram examinadas a cavidade abdominal, as possíveis aderências e focos de infecção, com colheita de secreção para estudo bacteriológico. As aderências foram classificadas em seis graus <sup>21</sup> ([Tabela II](#)).

Tabela II – Classificação das Aderências

Grau 0	Ausência
Grau 1	Número reduzido, de caráter fibrinoso, facilmente desfeitas pela manipulação
Grau 2	Firmes, resistentes à manipulação, entre alças intestinais, porém não envolvendo a parede abdominal
Grau 3	Firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e um órgão ou estrutura
Grau 4	Firmes, resistentes à manipulação, entre a parede abdominal e mais de um órgão ou estrutura
Grau 5	Firmes, resistentes à manipulação, entre alças e entre alças e a parede abdominal com fistula entérica

Modificado de Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junior F et al.<sup>21</sup>

Foram analisados a média de sobrevivência, o número de sobreviventes de cada grupo e a curva de sobrevivência. Para isso, foram utilizados testes estatísticos não-paramétricos, visando a comparar o tempo de sobrevivência (teste *t* de Student para amostras independentes), o número de sobreviventes (teste exato de Fischer), a curva de sobrevida de Kaplan Méier com o teste de Log-Rank. Foi considerado significativo o valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

A laparotomia, realizada seis horas após punção abdominal e a injeção de solução de fezes recém-defecadas, mostrou edema, hiperemia entre as alças e secreção com aspecto purulento na cavidade abdominal.

As bactérias isoladas do líquido peritoneal por ocasião da laparotomia foram: *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Proteus penneri*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus species*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aerococcus viridans*. A sensibilidade dessas bactérias aos antibióticos pode ser observada no [Quadro I](#).

Os ratos que sobreviveram no pós-operatório apresentavam-se dinâmicos e ingeriam alimentos líquidos e os exames das cavidades abdominais mostraram aderências de 2º e 3º graus. Os ratos que faleceram estavam adinâmicos, com piloereção, com halo escuro em torno dos olhos, taquipnéicos e anoréticos. O exame da cavidade abdominal mostrou pouca secreção purulenta e aderências frouxas entre as alças intestinais que foram consideradas de graus 0 e 1 ([Tabela II](#)).

A sobrevida dos animais foi mais freqüente no Grupo 4 com relação ao Grupo 3 ( $p < 0,01$ ) e aos grupos 2 e 1 ( $p < 0,001$ ) ([Tabela III](#)).

A curva de sobrevida mostra que houve 100% de mortalidade nos animais do Grupo 1, em 52 horas, 100% nos animais do Grupo 2, em 126 horas e 50% nos

animais do Grupo 3, em 50 horas. Os animais do Grupo 4 sobreviveram além de 11 dias. O teste de Log-Rank mostrou que houve aumento significativo na curva de sobrevivência do Grupo 4 com relação ao Grupo 3 ( $p < 0,01$ ), do Grupo 4 com relação aos grupos 2 e 1 ( $p < 0,001$ ), do Grupo 3 com relação ao Grupo 1 ( $p < 0,001$ ) e não houve diferença entre os grupos 1 e 2 (Figura 1).

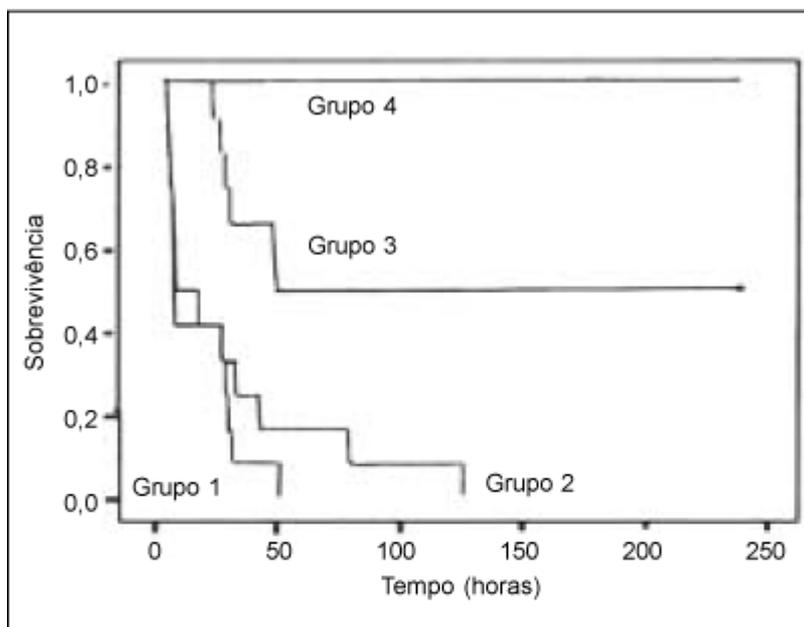


Figura 1 – Curva de Sobrevivência dos Ratos Submetidos à Laparotomia seguida de: Grupo 1 - controle: nenhum tratamento; Grupo 2: enxugamento da cavidade abdominal; Grupo 3: lavagem da cavidade abdominal com 3 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento; Grupo 4: lavagem da cavidade abdominal com 8 mg.kg<sup>-1</sup> ( $\pm$  0,5 mL) de bupivacaína 0,5% e 2,5 mL de solução fisiológica a 0,9% e enxugamento. Log Rank  $p < 0,05$  - do Grupo 4 com relação ao Grupo 3, do Grupo 4 com relação aos grupos 2 e 1, do Grupo 3 com relação ao Grupo 1. Não houve diferença entre os grupos 1 e 2.

## DISCUSSÃO

Neste estudo a lavagem da cavidade abdominal com solução de bupivacaína evitou a morte dos animais submetidos à peritonite por fezes autólogas. Resultado semelhante foi observado quando se lavou a cavidade abdominal de ratos com antibiótico para tratar a peritonite por dose letal de *Escherichia coli*<sup>22</sup>. Esse fato não ocorreu quando a cavidade abdominal com peritonite não foi tratada (grupo-controle) ou mesmo quando foi enxugada (Grupo 2) ou enxugada e lavada com solução fisiológica (Grupo 3). No Grupo 3, em que se realizou o enxugamento da cavidade seguida da lavagem peritoneal com solução fisiológica, houve maior sobrevivência que no grupo-controle. Isso mostra que a lavagem foi benéfica nesse modelo de peritonite. Apesar de ser motivo de controvérsias, a lavagem peritoneal na peritonite é utilizada por grande número de cirurgiões<sup>23,24</sup>. A lavagem peritoneal com solução fisiológica, em ratos com peritonite, resultou em menor mortalidade comparada com a simples limpeza da cavidade com compressas. No Grupo 4 a adição da bupivacaína à solução fisiológica foi mais eficaz para combater a

peritonite. O mecanismo pelo qual os anestésicos locais combatem a peritonite é basicamente antiinflamatório. A infusão contínua por bomba, por via subcutânea, de lidocaína a 5% e 10% e a bupivacaína a 1% e 2%, reduziu a mortalidade em ratos com peritonite<sup>18</sup>. Os anestésicos locais se mostraram eficazes para modular a cascata inflamatória na isquemia e reperfusão do coração<sup>8,9</sup>, do pulmão<sup>10</sup> e fígado<sup>12</sup> e foram capazes de exercer efeito antiinflamatório em vários tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e neutrófilos<sup>14</sup>. A ropivacaína atenuou a resposta inflamatória pulmonar por lipopolissacarídeo em ratos<sup>15</sup>. A lidocaína a 1% e a bupivacaína a 0,5% também foram capazes de prevenir a peritonite provocada por ácido clorídrico a 0,1 M<sup>16</sup>. A ativação da cascata da coagulação tem sido associada ao desenvolvimento da falência de múltiplos órgãos e sistemas, com prognóstico ruim em pacientes sépticos. Isso provavelmente decorre da coagulação intravascular disseminada que compromete o fluxo sanguíneo vital para o órgão, resultando em falência orgânica e morte<sup>25</sup>. Neste estudo esse fato não ficou demonstrado nos animais tratados com solução de anestésico local porque todos sobreviveram.

Além do efeito antiinflamatório, alguns anestésicos locais apresentam efeito bactericida contra algumas bactérias em laboratório<sup>19,20</sup>. Nesse experimento, não foi realizado o teste de sensibilidade das bactérias isoladas da cavidade abdominal dos ratos, porque em estudo piloto não foi possível concluir a respeito do efeito bacteriostático ou bactericida desses fármacos. Assim, além do possível efeito antiinflamatório dos anestésicos locais, deve-se considerar que o enxugamento da cavidade abdominal no Grupo 4 é também um mecanismo de combate à peritonite, porque remove bactérias e toxinas.

Nos animais sobreviventes, as cavidades abdominais apresentavam aderências mais intensas que nos animais que faleceram. As aderências têm a função de isolar os processos sépticos e proteger o organismo da bacteremia. A inibição dessas aderências é acompanhada de maior mortalidade, decorrente do processo séptico intra-abdominal generalizado<sup>26</sup>.

Os animais dos grupos-controle, 2 e 3, que faleceram, apresentavam no pós-operatório imediato manifestações de sepse, tais como: taquipnéia, anorexia, adinamia, piloereção e halo escuro em torno dos olhos, conforme relatado por Guilgen<sup>27</sup>. Os animais que sobreviveram estavam ativos e procuravam se alimentar. Em estudo piloto os autores observaram que os ratos que sobreviveram até o 10º dia não faleceram por peritonite. Por isso, o período de 10 dias foi utilizado para o estudo macroscópico da cavidade abdominal (*post-mortem*) e como parâmetro para a análise estatística da sobrevida dos animais. Considerando que não houve diferença estatística significativa entre os pesos dos animais nos quatro grupos, que os animais eram da mesma linhagem e que a técnica de peritonite foi a mesma, pode-se de certa forma estabelecer comparações na sobrevida entre os diferentes grupos.

A dose de anestésico local utilizada foi mínima, se for considerado que a dose letal média (LD<sub>50</sub>) de bupivacaína intraperitoneal é de 57,7 a 58,7 mg.kg<sup>-1</sup><sup>28</sup>. Na lavagem peritoneal, realizada após um primeiro enxugamento da cavidade abdominal, procurou-se espalhar o anestésico manualmente, para que esse fármaco tivesse o maior contato possível com todas as vísceras abdominais. A solução anestésica foi mantida por cerca de três minutos na cavidade para haver tempo suficiente da atuação. O segundo enxugamento foi realizado com movimentos suaves, evitando a retirada de todo o conteúdo da solução. Esse método foi satisfatório, uma vez que não houve óbito no Grupo 4, no qual foi utilizado o anestésico. Outros estudos poderão ser desenvolvidos para estudar outros anestésicos locais, em outros modelos de peritonite, associados ou não a outros recursos terapêuticos. Também poderão ser realizados novos estudos para

verificar o efeito de cada anestésico local nas bactérias causadoras de peritonite, na função dos órgãos e na reação inflamatória produzida antes e após a aplicação desses fármacos. Na vigência de peritonite, os cirurgiões mostram-se preocupados com o grau de acometimento da célula mesotelial (peritônio) e o real valor da lavagem peritoneal.

A lavagem peritoneal com solução de bupivacaína diluída em solução fisiológica a 0,9% foi eficaz para evitar o óbito em animais com peritonite fecal autóloga induzida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Apoio à Pesquisa Clínica e Experimental do Instituto de Desenvolvimento Sustentável (Instituto Solidário do Espírito Santo) pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

01. Sands KE, Bates DW, Handen PN et al. - Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. JAMA, 1997;278:23-40. [ [Links](#) ]
02. Garrido AG, Figueiredo LFP, Rocha e Silva M - Modelos experimentais de sepse e choque séptico: revisão. Acta Cir Bras, 2004;19:1-14. [ [Links](#) ]
03. Araújo Filho I, Honorato Sobrinho AA, Rego AC et al. - Influence of laparoscopy and laparotomy on gasometry, leukocytes and cytokines in a rat abdominal sepsis model. Acta Cir Bras, 2006; 21:74-79. [ [Links](#) ]
04. Van der Poll T, van Deventer SHJ - Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. Infect Dis Clin North Am, 1999; 13:413-428. [ [Links](#) ]
05. Dellinger RP - Inflammation and coagulation: implication for the septic patient. Clin Infect Dis, 2003;36:1259-1265. [ [Links](#) ]
06. Chalkiadis G, Kostakis A, Karayannacos PE et al. - The effect of heparin upon fibrinopurulent peritonitis in rats. Surg Gynecol Obstet, 1983;157:257-260. [ [Links](#) ]
07. Benjamin CF - Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. Medicina (Ribeirão Preto), 2001;34:18-26. [ [Links](#) ]
08. Strohm C, Barancik T, Bruhl ML et al. - Inhibition of the ER-kinase cascade by PD98059 and UO 126 counteracts ischemic preconditioning in pig myocardium. J Cardiovasc Pharmacol, 2000;36: 218-229. [ [Links](#) ]
09. Lee R, Nitta T, Schmid RA et al. - Retrograde infusion of lidocaine or L-arginine before reperfusion reduces myocardial infarct size. Ann Thorac Surg, 1998;65:1353-1359. [ [Links](#) ]

10. Das KC, Misra HP - Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med*, 2003;49:17-20.  
[ [Links](#) ]
11. Schmid RA, Yamashita M, Ando K et al. - Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann Thorac Surg*, 1996;61:949-955. [ [Links](#) ]
12. Tomori H, Shiraishi M, Koga H et al. - Protective effects of lidocaine in hepatic ischemia/reperfusion injury in vitro. *Transplant Proc*, 1998;30:3740-3742.  
[ [Links](#) ]
13. Chen MY, Li CH, Huang ZQ al. - Protective effects of lidocaine injected into the hepatoduodenal ligament on warm ischemia - reperfusion injury to the rat liver. *Chin Med J*, 2004;117:275-279. [ [Links](#) ]
14. Hollmann MW, Durieux ME - Local anesthetics and the inflammatory response: A new therapeutic indication. *Anesthesiology*, 2000;93:858-875. [ [Links](#) ]
15. Blumenthal S, Borgeat A, Pasch T et al. - Ropivacaine decreases inflammation in experimental endotoxin-induced lung injury. *Anesthesiology*, 2006;104:961-969.  
[ [Links](#) ]
16. Rimbäck G, Cassuto J, Wallin G et al. - Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology*, 1988;69:881-886. [ [Links](#) ]
17. Walley KR, Lukacs NW, Standiford TJ et al. - Balance of inflammatory cytokines related to severity and mortality of murine sepsis. *Infect Immun*, 1996;64:4733-4738. [ [Links](#) ]
18. Gallos G, Jones DR, Nasr SH et al. - Local anesthetics reduce mortality and protect against renal and hepatic dysfunction in murine septic peritonitis. *Anesthesiology*, 2004;101:902-911. [ [Links](#) ]
19. Aydin ON, Eyigor M, Aydin N - Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. *Eur J Anaesth*, 2001;18: 687-694. [ [Links](#) ]
20. Par AM, Zoutman DE, Davidson JS - Antimicrobial activity of lidocaine against bacteria associated with wound infection. *Ann Plast Surg*, 1999;43:239-245.  
[ [Links](#) ]
21. Diogo-Filho A, Lazarini BCM, Vieira-Junyor F et al. - Avaliação das aderências pós-operatórias em ratos submetidos a peritoniotomias com tela de polipropileno associada à nitrofurazona. *Arq Gastroenterol*, 2004;41:245-249. [ [Links](#) ]
22. Sortini D, Feo CV, Maravegias K et al. - A role of peritoneal lavage in adhesion formation and survival rate in rats: an experimental study. *J Invest Surg*, 2006;19:291-297. [ [Links](#) ]
23. Whiteside OJ, Tytherleigh MG, Thrush S et al. - Intra-operative peritoneal lavage - who does it and why? *Ann R Coll Surg Engl*, 2005;87:225-228.  
[ [Links](#) ]

24. Torres OJM, Macedo EL, Melo TCM et al. - Peritonite fecal em ratos: eficácia da lavagem peritoneal com solução de cloreto de sódio a 0,9%. Acta Cir Bras, 1999;14:65-68. [ [Links](#) ]
25. Levi M, Tem Cate H - Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med, 1999;341:586-592. [ [Links](#) ]
26. Rodrigues FHOC, Carneiro BGMC, Rocha RF et al. - Inibição da formação de abscesso abdominal em rato - Mortalidade por sepse. Arq Gastroenterol, 2005;42:50-54. [ [Links](#) ]
27. Guilgen GA, Czesko NG, Malafaia O et al. - Peritonite infecciosa com quantitativos e qualitativos bacterianos conhecidos estudo experimental em ratos. Rev Col Bras Cir, 1998;25:39-43. [ [Links](#) ]
28. De Jong RH, Bonin JD - Deaths from local anesthetic-induced convulsion in mice. Anesth Analg, 1980;59:401-405. [ [Links](#) ]

 **Endereço para correspondência:**

Dr. Marcos Célio Brocco  
Rua Pedro Luis Zanandréa, 55 - Mata da Praia  
29065-610 Vitória, ES  
E-mail: [mcbrocco@unimedvitória.com.br](mailto:mcbrocco@unimedvitória.com.br)

Apresentado em 16 de março de 2008  
Aceito para publicação em 23 de junho de 2008