

JOSÉ RICARDO GUIMARÃES

**ACURÁCIA DA CULTURA DE BIÓPSIA E ASPIRADO
HEPÁTICOS NO DIAGNÓSTICO DA COLONIZAÇÃO
BACTERIANA DA BILE**

1994
Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Curso de Pós-Graduação em
Gastroenterologia.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Orientador: Prof. Ismael Maguilnik

PORTO ALEGRE

1994

A Marília, Júlia e Ana.

AGRADECIMENTOS

Dr. Ismael Maguilnik

Pela orientação e amizade.

Dr Alceu Migliavacca

Pelo estímulo e apoio em todas as fases da elaboração deste trabalho.

Dr. Paulo Sandler e Dr. José R. Krue de Almeida

Pela ajuda inestimável na coleta dos dados.

Dra. Marilei Wolfart

Pela dedicação e competência na realização dos estudos bacteriológicos.

Dr. Roberto Matusiak

Pela ajuda no estabelecimento da técnica bacteriológica e dedicação nos estudos bacteriológicos.

Dra. Suzana Barcelos

Pela acolhida e apoio recebida junto ao Serviço de Microbiologia do HCPA

Dra. Mari C. Buseti

Pela ajuda na análise estatística e metodológica.

Ao grupo de residentes de cirurgia geral do HCPA

Pela paciência na coleta das amostras.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 COLETA DE AMOSTRAS PARA EXAMES BACTERIOLÓGICOS	2
1.2 BACTÉRIAS NA BILE E TECIDO HEPÁTICO DO INDIVÍDUO NORMAL	5
1.3 BACTÉRIAS NA BILE E TECIDO HEPÁTICO DE PACIENTES COM PATOLOGIAS BILIARES	7
1.4 JUSTIFICATIVA	16
1.5 OBJETIVOS	17
2 MATERIAL E MÉTODOS	18
2.1 AMOSTRA	19
2.2 DELINEAMENTO	20
2.3 VARIÁVEIS	21
2.4 COLETA DE DADOS	25
2.5 ANÁLISE DE DADOS	27
3 RESULTADOS	29
4 DISCUSSÃO	42
4.1. OS PACIENTES	43
4.2 FATORES DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	43
4.3 O PADRÃO-OURO	45
4.4 O SÍTIO DE ORIGEM DAS BACTÉRIAS ISOLADAS	47
4.5 AS PREVALÊNCIAS DAS CULTURAS BACTERIANAS	48
4.6 AS ESPÉCIES BACTERIANAS ISOLADAS	51
4.7 OS ANTIBIÓTICOS PROFILÁTICOS	53
4.8 A CULTURA BACTERIANA DA BIÓPSIA E ASPIRADO HEPÁTICOS	54
5 CONCLUSÃO	57
6 ANEXOS	59
ANEXO 1 - CÁLCULO DO PODER ESTATÍSTICO	60
ANEXO 2 - FICHA DO PACIENTE	61
ANEXO 3 - BANCO DE DADOS	63
ANEXO 4 - CODIFICAÇÃO	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Distribuição da população segundo a faixa etária.....	30
Tabela 2.	Distribuição da população segundo o diagnóstico pré-operatório	31
Tabela 3.	Distribuição da população segundo o tipo de cirurgia realizada.....	31
Tabela 4.	Distribuição dos fatores de risco para a presença de colonização bacteriana da bile	32
Tabela 5.	Frequência das espécies bacterianas isoladas na bile do colédoco	33
Tabela 6.	Frequência das espécies bacterianas isoladas na bile da vesícula biliar ..	34
Tabela 7.	Relação de pacientes com culturas positivas de acordo com o local de coleta da amostra submetida a cultura bacteriana.....	35
Tabela 8.	Resistência bacteriana aos antibióticos segundo a espécie bacteriana isolada e local de coleta da amostra.	36
Tabela 9.	Associação entre a presença de fatores de risco e cultura bacteriana da bile do colédoco	37
Tabela 10.	Resultado da cultura bacteriana da bile do colédoco segundo os fatores de risco para colonização bacteriana da bile.	38
Tabela 11.	Associação entre presença de fatores de risco e uso de antibióticos profiláticos	38
Tabela 12.	Associação entre uso de antibióticos profiláticos e cultura bacteriana da bile do colédoco.....	39
Tabela 13.	Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e da vesícula biliar.....	39
Tabela 14.	Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e da biópsia hepática.....	40
Tabela 15.	Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e do aspirado hepático.....	41
Tabela 16.	Associação entre as culturas bacterianas da biópsia e aspirado hepáticos.....	41

RESUMO

RESUMO

As principais causas de morbidade e mortalidade em cirurgia biliar relacionam-se a complicações sépticas. Estas associam-se à presença de bile colonizada por bactérias. Pacientes portadores de patologias biliares apresentam colonização bacteriana da bile em uma prevalência que varia de 11 a 100%. A maior parte dos estudos identifica uma prevalência de colonização da bile em torno de 1/3 dos casos. As espécies bacterianas mais freqüentemente isoladas são as da flora entérica, destacando-se a *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* e *Streptococcus faecalis*. As bactérias anaeróbicas são encontradas em zero a 40% dos pacientes, sendo as mais prevalentes dos gêneros *Bacteroides* e *Clostridium*. No presente estudo, foram coletadas biópsias hepáticas intra-operatórias com agulha de Vinn Silvermann e material denominado de aspirado hepático, constituído do sangue aspirado pela agulha após a retirada do fragmento da biópsia. O estudo visa identificar a acurácia da cultura bacteriana destes materiais no diagnóstico da colonização bacteriana da bile. A cultura da bile do colédoco, coletada por cateterização transcística da via biliar, foi escolhida como padrão-ouro. Além destas, foram realizadas culturas de bile da vesícula biliar e sangue periférico. Foram, também, coletados dados de idade, sexo, diagnóstico pré-operatório, fatores de risco para colonização biliar e uso de antibióticos profiláticos. A população amostrada foi de pacientes submetidos a cirurgia biliar no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram excluídos pacientes em uso de antibióticos em regime terapêutico, uso de corticóides ou imunossupressores, presença de patologias parenquimatosas hepáticas e patologias infecciosas abdominais fora das vias biliares. As culturas aeróbicas foram feitas usando meio de agar-tripnase-soja enriquecido com sangue humano desfibrinado e agar-MacConkey, incubados por 24 horas. As cultura anaeróbicas foram semeadas em caldo de tioglicolato enriquecido com vitamina K-hemina 1%, agar-Brucella e agar-fenil-etanol enriquecidos com sangue de carneiro desfibrinado e vitamina K-hemina. O tempo de incubação foi de 48 horas. Entraram no estudo 57 pacientes, sete foram excluídos, permanecendo 50. A média de idade foi de 45,7 anos (\pm 15,3). Quarenta e oito pacientes tinham

o diagnóstico pré-operatório de colecistite crônica, sendo 13 deles associada à coledocolitíase. Havia um caso de colecistite aguda e um de estenose pós-cirúrgica de via biliar. O fator de risco para colonização da bile de maior prevalência foi a coledocolitíase, com 13 pacientes. Vinte e nove pacientes não apresentavam nenhum fator de risco. Foram isoladas bactérias na bile do colédoco de nove pacientes. As espécies encontradas foram: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus α-haemolítico*. Na bile da vesícula biliar, foram isoladas bactérias em 7 pacientes: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*. Houve concordância entre os resultados da bile do colédoco e da vesícula biliar em 97,7% dos casos. A cultura da biópsia hepática foi positiva em dois casos. Em um, foi isolado *Staphylococcus epidermidis*, onde provavelmente houve contaminação externa. No outro, foi isolada *Klebsiella pneumoniae* que também havia sido encontrada na bile do colédoco do mesmo paciente. Neste paciente foi isolada *Klebsiella* no aspirado hepático. Foi o único caso de cultura positiva no aspirado hepático. A cultura da biópsia hepática teve uma sensibilidade de 0,11, especificidade de 0,98, valor preditivo positivo de 0,50 e valor preditivo negativo de 0,83. A cultura do aspirado hepático apresentou uma sensibilidade de 0,11, especificidade de 1,0, valor preditivo positivo de 1,0 e valor preditivo negativo de 0,84. Conclui-se que a cultura da biópsia e aspirado hepáticos com a técnica bacteriológica empregada no estudo demonstrou uma acurácia diagnóstica baixa. A sua utilidade clínica na identificação de pacientes portadores de bactérias na bile é limitada.

ABSTRACT

ABSTRACT

The main causes of morbidity and mortality in biliary tract surgery are related to septic complications. Those relate to the presence of bile colonized by bacteria. Patients with biliary pathology show bacteria colonization of bile in a prevalence which varies from 11 to 100%. The majority of the studies identify a prevalence of colonization of bile about 1/3 of the cases. The bacterial species most frequently isolated are those of enteric flora, distinguishing the *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* and *Streptococcus faecalis*. The anaerobic bacteria are found in zero to 40% of the cases, being the most prevailing of the species *Bactoides* and *Clostridium*. In the present study there were collected hepatic intra-surgical biopsies with a needle of Vinn Silvermann and material named hepatic aspirated, made of aspirated blood through the needle after the removal of the pieces of the biopsy. The study aims to identify the accuracy of the bacterial culture from those substances in the diagnostic of the bacterial colonization of the bile. The culture of the bile from the common duct, collected by cystic duct probing, was chosen as the gold-standard. Besides those, there were made cultures of bile of the gallbladder and peripheral blood. It was also collected data of age, sex, preoperative diagnosis, risk factors to biliary tract colonization and the use of prophylactic antibiotics. The sampled population was of patients undergoing on biliary tract surgery at the "Hospital de Clínicas de Porto Alegre". Patients in therapeutical use of antibiotics, using corticoesteroids or immunossupressive drugs, with hepato-cellular pathologies and abdominal infectious pathologies out of the biliary tract were excluded. The aerobic cultures were made by the use of agar-tripnase-soy improved by desfibrinated human blood and agar-McConkey, incubated for 24 hours. The anaerobic cultures were sowed in a broth of tioglicolatus improved by vitamins K-hemine 1%, agar-Brucella and agar-fenil-ethanol improved with desfibrinated sheep blood and vitamin K-hemine. The time of incubation was of 48 hours. From 57 patients that begun the study, 7 were excluded, remaining 50. The age average was of 45,7 years old (\pm 15,3). Forty-eight patients had the preoperative

diagnosis of chronic cholecystitis, 13 of them being related to choledocholithiasis. There was a case of acute cholecystitis and one of postoperative biliary tract stenosis. The risk factor to bile colonization of major prevalence was the choledocholithiasis (13 patients). Twenty-nine patients did not show any risk factor. They were isolated bacteria in the common duct bile of nine patients. The species found were *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus α-haemolitico*. In the gallbladder bile bacteria were isolated in 7 patients: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*. There was agreement between the results of the common duct and gallbladder bile in 97,7% of the cases. The culture of the hepatic biopsy was positive in two cases. In one, it was isolated *Staphylococcus epidermidis*, were probably there was external contamination. In the other one, it was isolated *Klebsiella pneumoniae*, which had also been found in the common duct bile of the same patient. In that patient it was isolated *Klebsiella* in the hepatic aspirated. It was the only case of positive culture in the hepatic aspirated. The hepatic biopsy culture had a sensibility of 0,11, a specificity of 0,98, a predictive positive value of 0,50 and a predictive negative value of 0,83. The hepatic aspirated culture showed a sensibility of 0,11, a specificity of 1,0, a predictive positive value of 1,0 and a predictive negative value of 0,84. We concluded that the culture of the biopsy and hepatic aspirated, with the bacteriological technique used in the study, showed a low diagnostic accuracy. It has a low clinical use in the identification of patients with biliary tract colonization.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A litíase biliar é uma patologia de alta prevalência na população (DIEHL, 1991, p. 1) Estudos desenvolvidos na Europa relatam prevalências que variam de 1,1 a 39% nos homens e de 2,5 a 41,3% nas mulheres, de acordo com a faixa etária da população estudada (BARBARA et al., 1987, p.915; BAINTON et al., 1976, p. 1146; GAMBEK et al., 1987, p. 1092; JANZON et al, 1985, p. 707; JORGENSEN, 1987, p. 915; MELLSTROM, ASZTELY, SVANVIK, 1988, p. 1243; RHOMBERG, JUDMAR, DINAN, 1984, p. 289; ROME GROUPE FOR THE EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION OF CHOLELITHIASIS, 1984, p. 800). Nos Estados Unidos são realizadas anualmente mais de 500.000 colecistectomias e ocorre um número 5200 óbitos em consequência de patologias biliares (DIEHL, 1991, p. 1). No nosso meio não existem dados a este respeito. As principais causas de morbidade e mortalidade em cirurgia biliar associam-se a infecção (GUNN, 1982, p. 301; MCSHERRY, GLENN, 1980, p. 271) e são mais prevalentes nos pacientes com bactérias na bile (LYGIDAKIS, 1982, p. 15; ROBSON, BOGART, HEGGERS, 1970, p. 471; STRACHAN, 1977, p. 1254).

1.1 COLETA DE AMOSTRAS PARA EXAMES BACTERIOLÓGICOS

As técnicas de coleta de bile para estudo bacteriológico são diversas. Os locais de coleta mais utilizados são a vesícula biliar, o colédoco, as vias biliares intra-hepáticas, parênquima hepático e o conteúdo duodenal.

A bile obtida através de punção direta da vesícula biliar, realizada no início da cirurgia e enviada ao laboratório em ambiente livre de oxigênio, é considerada uma amostra adequada para o diagnóstico de colonização bacteriana da bile (CLAESSON, 1986, p. 94). Diversos autores utilizam-se também da cultura da parede da vesícula biliar paralelamente a esta

amostra (ALLOUCH et al., 1988, p. 691; ENGSTRÖN et al., 1971, p. 178; FLEMMMA et al., 1967, p. 564; HAMBRAEUS et al., 1990, p. 156). Alguns encontram prevalências de culturas bacterianas positivas menores na parede vesicular se comparadas à bile coletada por punção (ALLOUCH ET AL., 1988, p. 691; ENGSTRÖN et al., 1971, p. 180). Outros consideram os dois tipos de amostras como equivalentes (FLEMMMA et al., 1967, p. 567; HAMBRAEUS et al., 1990, p. 157). Os diversos passos no processamento do fragmento de parede vesicular no laboratório - embalagem em frasco adequado e em condições anaeróbicas, homogeneização e cultura - acrescentam mais riscos de contaminação externa se comparada ao tipo de processamento utilizado para a cultura da bile (CLAESSON, 1986, p. 94).

A bile do colédoco pode ser obtida de várias formas: punção percutânea, aspiração duodenal, cateterização endoscópica retrógrada da papila de Vater, punção direta da via biliar no intra-operatório, cateterização transcística intra-operatória e coletas por dreno em T (CLAESSON, 1986, p. 102). Segundo KEIGHLEY (1977, p. 333) a aspiração duodenal define a presença e o tipo de bactérias das vias biliares em 75% dos casos com um percentual de 6% e 11% de falsos positivos e negativos respectivamente. Em 8% a espécie bacteriana é identificada incorretamente. BABU et al. (1988, p. 94) comparando os métodos de coleta obteve índices de positividade das culturas semelhantes para o aspirado duodenal e cultura da bile do colédoco. SUZUKI et al (1984, p. 114) estudaram a acurácia da cultura de aspirado duodenal comparando-a com a cultura da bile coletada por punção trans-hepática. Encontraram sensibilidade de 0,95, especificidade de 0,66, valor preditivo positivo de 0,86 e valor preditivo negativo de 0,85. Apesar destes dados, alguns autores sugerem que a coleta direta por canulação da papila apresenta maior acurácia diagnóstica e menor risco de contaminação pela flora duodenal (CLAESSON, 1986, p. 102; HATFIELD et al., 1982, p. 120). Dentro das opções de coleta intraoperatória, encontram-se a punção direta do colédoco e a cateterização transcística. A punção direta, quando não seguida de coledocotomia, carrega o risco de estenose de via biliar (CLAESSON, 1986, p. 102; ELKELES e MIRIZZI, 1942, p. 363) e fístula

biliar pós-operatória (PALACIOS, 1991, p. 22). A cateterização do ducto cístico é um método seguro desde que a extremidade proximal do mesmo esteja ligada para evitar a contaminação com material da vesícula biliar (CLAESSON, 1986, p. 102, LÖTVEIT et al., 1978, p. 94). As coletas de bile pelo dreno em T estão sujeitas às alterações ocorridas no perfil bacteriano da bile após a colocação do dreno, quando ocorre aumento da prevalência de colonização bacteriana da bile e modificação nas espécies bacterianas isoladas (DYE et al., 1978, p. 286; KEIGHLEY et al., 1974, p. 579; KEIGHLEY, 1977., p. 329; SILEN et al., 1978, p. 326)

Aceitando o conceito de que a bile da vesícula biliar é representativa da bile da totalidade das vias biliares, alguns autores têm utilizado o estudo bacterioscópico intra-operatório da bile coletada da vesícula biliar para a avaliação do seu perfil bacteriano (BRENNER et al., 1987, p. 84; CLAESSON, 1986, p. 93; KEIGHLEY et al., 1974, p. 578; FELIZ et al., 1987, p. 162; KEIGHLEY, 1977., p. 328; KEIGHLEY, FLINN e ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 528;). KEIGHLEY, FLINN e ALEXANDER-WILLIAMS (1977., p. 329; 1976b, p. 530) obtiveram uma acurácia geral de 77%, um valor preditivo positivo de 0,88 e um valor preditivo negativo de 0,93 . BRENNER et al. (1987, p. 84) realizaram estudo semelhante no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, obtendo uma concordância de resultados entre a cultura e a bacterioscopia em 86% dos 79 pacientes estudados.

As técnicas utilizadas para estudo bacteriológico do tecido hepático são biópsia intra-operatórias com agulha de Vim-Silvermann (DYE et al., 1978, p. 285; RODRIGUEZ et al., 1990, p.2; SBOROV et al., 1955, p. 987) ou biópsias em cunha (EDLUNG et al., 1958/1959, p. 462). Não há descrito na literatura comparação entre os dois métodos.

1.2 BACTÉRIAS NA BILE E TECIDO HEPÁTICO DO INDIVÍDUO NORMAL

A frequência da colonização bacteriana da bile em indivíduos normais é matéria de divergência na literatura. Segundo CLAEISSON (1986, p. 94), "nothing is really known about gallbladder microflora in patients with diabetes and in the aged without colecystopathia [...] however, most data convey the concept of sterile bile in the healthy individual"¹. Já SCOTT (1971, p 487) prefere dizer que "the biliary tract probably does not harbour bacteria at most times in normal individuals"², utilizando-se do argumento de que obstrução biliar completa está raramente associada à colangite bacteriana. EDLUNG et al. (1958/1959, p. 466) estudaram a bacteriologia da bile aspirada da vesícula biliar de 48 pacientes submetidos a laparotomia por úlcera gástrica ou duodenal. Os dois casos em que as culturas foram positivas foram considerados pelos autores como contaminação durante a coleta, já que o tipo de bactéria identificada foi de um grupo esperado para o ar ambiente da sala cirúrgica. Resultados semelhantes foram obtidos por LYKKEGAARD-NIELSEN et al. (1976, p. 439) em 38 pacientes operados por outras patologias que não de vias biliares. CSENDES et al. (1975, 630) coletaram amostras para estudo bacteriológico de três grupos distintos de pacientes submetidos a laparotomia: portadores de úlcera péptica, portadores de colecistite crônica litiásica e portadores de colecistite aguda. No grupo de 20 indivíduos que não apresentavam patologia biliar, as culturas foram todas negativas, contrastando com os demais, onde obteve um percentual de positividade de 30 e 43% respectivamente. DYE et al. (1978, p. 285) realizaram estudo semelhante cultivando a bile da vesícula biliar e do colédoco de quatro grupos de pacientes submetidos a laparotomia: portadores de úlcera duodenal ou "outra patologia abdominal" [sic], portadores de coledocolitíase, portadores de colecistite crônica litiásica e portadores de mucocele de vesícula biliar. Seis em vinte pacientes pertencentes ao primeiro grupo, isto é,

¹ Nada é realmente sabido sobre a microflora da vesícula biliar em pacientes com diabete e nos idosos sem colecistopatia [...], entretanto a maior parte dos dados levam ao conceito de bile estéril em indivíduos normais.

² As vias biliares não abrigam bactérias na maior parte das vezes em indivíduos normais.

ausência de patologia biliar, apresentaram crescimento bacteriano na bile da vesícula biliar. Os autores não discriminam as bactérias encontradas nestes pacientes, exceto em um dos casos onde foi identificado *Staphylococcus albus*, quando levantam a hipótese de contaminação externa no momento da coleta . Em dois pacientes foram coletadas amostras de bile do colédoco as quais não apresentaram crescimento bacteriano. ADEDEJI et al. (1986, p. 508) realizaram um levantamento do perfil bacteriano de pacientes nigerianos submetidos a laparotomia por patologias não biliares. Encontraram uma prevalência de 20% (5 em 25 pacientes) de culturas bacterianas positivas na bile. A bactéria mais prevalente foi a *Escherichia coli* (cinco casos) seguida do *Streptococcus faecalis* (três casos) e *Bacteroides fragilis* (um caso).

SUNG et al. (1991, p. 943) consideraram que o achado de culturas bacterianas negativas na bile de indivíduos normais não exclui a ocorrência de passagem eventual de bactérias por este local. Para testar esta hipótese, elaboraram um modelo em gatos, implantando cálculos biliares e próteses de polietileno estéreis na vesícula biliar destes animais. Os animais foram sacrificados após duas, seis e doze semanas do implante. Foram realizados estudos bacteriológicos e por microscopia eletrônica dos implantes, ficando demonstrada a presença de várias espécies de bactérias (*Streptococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*, *Clostridium perfringens*, *Acinetobacter sp*) em uma frequência significativamente maior do que nos grupos controle. Concluíram que ocorre passagem transitória de bactérias no trato biliar de felinos.

SBOROV et al. (1952, p. 986) realizaram um estudo com o objetivo de comparar a flora hepática de indivíduos portadores de patologias hepáticas agudas e crônicas com indivíduos com fígado normal. As biópsias foram coletadas em sua maior parte com agulha de Vinn Silvermann. Nos treze pacientes com fígado normal, as culturas de tecido hepático foram negativas. Nos restantes 53 pacientes, constituídos de portadores de hepatite aguda e crônica, cirrose e esteatose, a cultura foi positiva em dois. No primeiro, cresceu um organismo aeróbico facultativo, de espécie desconhecida, que parecia-se muito a *Klebsiella* [sic]. No outro, a coleta

foi realizada trinta minutos após a morte, sendo demonstradas diversas bactérias: *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e *Proteus mirabilis*. Paralelamente cultivaram fragmentos hepáticos de vinte cães, demonstrando crescimento de *Clostridia sp* em sete. EDLUNG et al. (1959, p. 462) cultivaram fragmentos hepáticos em dezesseis pacientes livres de patologias hepáticas ou de vias biliares submetidos a laparotomia por úlcera péptica. Encontraram em três deles bactérias anaeróbicas, não especificando a espécie. Mais recentemente, DYE et al. (1978, p. 285) realizaram estudo semelhante, comparando a prevalência de culturas positivas de amostras de bile e fragmento hepático em pacientes com diversos tipos de patologias biliares (coledocolitíase, colelitíase com vesícula biliar funcionando, colelitíase com vesícula biliar não funcionando), utilizando como grupo controle trinta pacientes submetidos a laparotomia por úlcera péptica. Neste grupo identificou 17% de culturas hepáticas positivas. Não são discriminados no trabalho as espécies bacterianas isoladas.

1.3 BACTÉRIAS NA BILE E TECIDO HEPÁTICO DE PACIENTES COM PATOLOGIAS DAS VIAS BILIARES

As prevalências de culturas bacterianas da bile positivas em pacientes portadores de patologias biliares variam de 11 a 100% de acordo com a seleção dos pacientes estudados (ADEDEJI et al., 1986, p. 508; ALLOUCH ET AL., 1988, p. 691; BABU et al., 1988, p.93; BRENNER et al., 1988, p. 46; BROOK, 1989, p. 2374; CATANZANO, 1989, p. 358; CHEW et al., 1986, p. 173; CLAESSON et al., 1986, p. 94; CSENDES et al., 1975, p. 630; CSENDES et al., 1988, p. 698; DUNCAN e SOTERO, 1986, p. 177; DYE et al., 1978, p. 286; FAN et al., 1991, p. 1030; FELIX et al., 1987, p. 163; FLEMMMA et al., 1967, p. 566; GERECHT et al., 1989, 1280; GREGG et al., 1985, p. 670; HAMBRAEUS et al., 1990, p. 156; KEIGHLEY et al., 1974, p. 579; KEIGHLEY et al., 1976c, p. 497; KEIGHLEY et al., 1977, p. 329; KOWOSKI et al., 1987, p. 576; LAI et al., 1989, p. 270; LEE et al., 1992, p. 347; LEVINE et al., 1990, p. 365; LEWIS et al.,

1987, p. 45; MALUENDA et al., 1989, p. 133; MARNE et al., 1986, p. 35; PALACIOS et al., 1991, p. 20; PERROTTA, 1990, p. 70; PRÉVÔT et al., 1991, 690; RICHA e MARTIZ, 1985, p. 12; RUBINSTEIN et al., 1986, p. 214; SAUTER et al., 1990, p. 165; SCOTT, 1971, 487; SILENT et al., 1978, p. 326; SUZUKI et al., 1984, p. 110; TORRES et al., 1993, p. 2; VETENCOURT, 1983, p. 243; WELLS et al., 1989, p. 375; YIO et al., 1992, p. 1002, YOSHII, et al, 1987, p. 904). A maior parte dos estudos identifica uma prevalência de 16 a 32% (CLAESSON, 1986, p. 94). As prevalências mais elevadas estão nos grupos de pacientes com colangite (BRENNER et al., 1987, p. 84; CHEW et al., 1986, 173; CSENDES et al., 1988, p. 698; FAN et al., 1991, p. 1030; FLEMMMA et al., 1967, p. 566; GERECHT et al., 1989, p. 1280; LEWIS et al., 1987, p. 45; RAPER et al., 1989, p. 353; SCOTT, 1971, p. 489; SINANAN, 1992, p. 576). Já em 1959, EDLUNG et al. (1958/1959, p. 463) demonstravam que em grupos de diferentes situações clínicas as prevalências de colonização bacteriana da bile também eram diversas: pacientes com colecistite aguda tinham a bile colonizada em três quartos dos casos, com colecistite crônica próximo à metade dos casos e obstrução de via biliar associada à colecistite crônica nove décimos. KEIGHLEY, FLINN e ALEXANDER-WILLIAMS (1976, p. 529), através de análise multivariada de 27 possíveis fatores de risco, demonstraram que oito estavam associados a aumento da prevalência de colonização bacteriana da bile: idade acima de 70 anos, cirurgia de emergência, icterícia, calafrios até uma semana antes da cirurgia, colecistite aguda até quatro semanas antes da cirurgia, cirurgia biliar prévia e presença de obstrução de vias biliares. Foram considerados fatores de baixo risco (fatores de proteção): idade abaixo de 60 anos, ausência de icterícia ou calafrios no passado, cirurgia eletiva das vias biliares, cálculos confinados à vesícula biliar. Os outros fatores estudados que não associaram-se a risco ou proteção foram: sexo, icterícia prévia, idade entre 60 e 70 anos, ausência de cirurgia biliar prévia, vesícula biliar de aspecto normal ou colecistite crônica, ausência de cálculos, ausência de obstrução de ducto cístico, ausência de obstrução de vias biliares e obstrução neoplásica. Nos pacientes considerados de alto risco, a prevalência de culturas bacterianas positivas foi 67% contra 19% nos de baixo risco, diferença estatisticamente significativa (p menor que 0,001). As prevalências

de culturas positivas encontradas pelo autor para os grupos específicos de pacientes portadores de fatores de risco são: idade acima de 70 anos - 53%; cirurgia de emergência - 94%; icterícia - 66%; calafrios até uma semana antes da cirurgia - 72%; colecistite aguda até quatro semanas antes da cirurgia - 49%; cirurgia biliar prévia - 100%; coledocolitíase - 86%; obstrução de vias biliares - 63%. As complicações infecciosas da cirurgia também foram significativamente mais prevalentes nos pacientes de alto risco: 38 contra 14% (p menor que 0,01). Vários outros estudos confirmaram, posteriormente, estes achados (ALLOUCH , LEGUÉ, GHASSIA, 1988, p. 692.; BABU et al., 1988, p. 94; BRENNER et al, 1986, p. 47; CLAEISSON, 1986, p. 95; CSENDES et al., 1988, p. 699; DUNCAN, SOTERO, 1986, p. 119; LEWIS et al., 1987, p. 46; PALACIOS et al., 1991, p. 23; RICHA, MARTIZ, 1985, p. 12 ; SAUTER et al., 1990, p. 166; TORRES et al., 1993, p.4; WELLS et al., 1989, p. 376).

Além dos anteriormente citados, foram identificados outros fatores de risco para colonização bacteriana da bile em pacientes portadores de patologia de vias biliares, tais como a presença de cálculos de bilirrubinato de cálcio (CETTA, 1991, p. 317; TABATA, NAKAYAMA, 1981, p. 220), presença de divertículo duodenal justa-papilar (LÖTVEIT, OSNES, AUNE, 1978, p. 94), anastomose bilio-digestiva prévia (FLEMMMA, FLINT, OSTERHOUT, 1967, p. 566; LYKKERGAARD-NIELSEN, JUSTESEN, 1976, p. 440), níveis baixos de IgA secretória na bile do colédoco (LEUNG, VENEZUELA, 1991, p. 220; YIO et al., 1992, p. 1007), papilotomia endoscópica (GREGG, GIROLAMI, CARR-LOCKE, 1985, p. 669; SAND et al., 1992, p. 326) e dilatação de colédoco (LYGIDAKIS, 1982, p. 15).

CLAEISSON (1986, p. 95) realizou uma metaanálise com 28 trabalhos, estudando a bacteriologia da bile da vesícula biliar na colecistite crônica, publicados entre 1958 e 1986. A espécie mais encontrada foi a *Escherichia coli*. As enterobactérias e enterococos constituíram mais de 75% das espécies identificadas. O restante era composto por outras espécies de estreptococos, estafilococos e bactérias anaeróbicas. A prevalência de bactérias anaeróbicas isoladas variou de zero a 9% de acordo com a condição clínica dos pacientes estudados.

LIKKEGAARD-NIELSEN e JUSTESEN (1976, p. 439) isolaram bactérias anaeróbicas em 32% dos casos estudados, sendo os gêneros mais encontrados o *Fusobacterium* e *Bacteroides*. ENGLAND e ROSEMBLATT (1977, p. 495) cultivaram bactérias anaeróbicas em 40% dos pacientes estudados. Outro estudo, desenvolvido na Clínica Mayo por FARNELL, HEERDEN e BEART (1981, p. 338), em pacientes submetidos a colecistectomia simples eletiva, identificou somente um caso de colonização por bactérias anaeróbicas (*Clostridium perfringens*) em 100 pacientes estudados. Estudo posterior, também da Clínica Mayo, envolvendo 371 pacientes com colecistite aguda, colangite, febre peri-operatória e coledocolitíase encontrou uma prevalência de 27%, sendo o *Bacteroides sp* o de maior frequência (45% de 157 espécies isoladas)(ENGLAND, ROSEMBLATT, 1977, p. 496). Esta aparente discrepância de resultados reforça o conceito de que a população em estudo deve ser definida com exatidão, uma vez que variações extremas no perfil bacteriano relacionam-se às condições clínicas encontradas (CLAESSON, 1986, p. 95).

A prevalência de culturas bacterianas positivas da bile na colecistite aguda é maior do que na colecistite crônica (CLAESSON, 1986, p 95; FUKUNAGA, 1973, p. 170; KUNE, SHUTZ, 1974, p. 256; TRUEDSON et al., 1983, 309). Embora um grande número de bactérias possam ser isoladas, o espectro bacteriano não difere significativamente dos casos crônicos, sendo as espécies mais encontradas a *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* e *Streptococcus faecalis* (CLAESSON, 1986, p 95).

O perfil bacteriano do colédoco é dominado pelas enterobactérias (CLAESSON, 1986, p 103). A *Escherichia coli* e *Klebsiella sp* chegam a constituir 70% das espécies isoladas (SUZUKI, KOBAYASHI, OHTO, 1984, p. 111). *Proteus* e *Pseudomonas* são mais frequentes em pacientes que estão em tratamento com antibióticos (SUZUKI, KOBAYASHI, OHTO, 1984, p. 110) ou submetidos previamente a cirurgia sobre a via biliar (LEUNG, VENEZUELA, 1991, p. 220). O uso de antibióticos profiláticos, quando iniciados no pré-operatórios e por curta duração, não altera a prevalência de culturas bacterianas positivas da bile (GUNN, 1982, p. 303; KEIGHLEY,

DRYSDALE, QUORAISHI, 1976, p. 497; PITT, POSTIER, CAMERON, 1982, p. 447). Nas patologias coledocianas as bactérias anaeróbias mais prevalentes são os *Bacteroides* (LYGIDAKIS, 1982, p. 255; LYKKERGAARD-NIELSEN, JUSTESEN, 1976, p. 441; PITT, POSTIER, CAMERON, 1982, p. 447; PITT, POSTIER, CAMERON, 1983, p. 449) em contraste com a flora das patologias da vesícula biliar onde predominam *Clostridium* e outros Gram positivos (CLAESSON, 1986, p. 99). A prevalência de bactérias anaeróbicas é significativamente maior no grupo de pacientes portadores de coledocolitíase associado a colangite (PITT, POSTIER, CAMERON, 1983, p. 449; SINANAN, 1992, p. 576). Estas diferenças na espécie bacteriana encontrada estão relacionadas às diferenças no tipo e localização da patologia biliar. Independem do local onde foi coletada a amostra de bile, já que a cultura da bile da vesícula biliar e do colédoco apresentam um elevado grau de concordância quanto às espécies bacterianas isoladas (CLAESSON, HOLMLUND, MÄTZSCH, 1984, p. 231; KEIGHLEY, 1977, p. 329).

Alguns autores tem relatado a presença de colonização das vias biliares por fungos em uma prevalência entre 1 a 3% (LEE, 1992, p. 348; LEWIS, 1987, p. 45; PALACIOS, 1991, p. 21). Este tipo de colonização tende a ocorrer na presença de neoplasia, imunossupressão, diabete ou durante tratamento com antibióticos (MORRIS et al., 1990, p. 483). A maior parte das séries publicadas não refere à presença de fungos na bile (ADEDEJI et al., 1986, p. 508; BRENNER et al., 1986, p. 46; BRENNER et al., 1987, p. 85; BROOK, 1989, p. 2374; CATANZANO et al., 1989, p. 358; CHEW et al., 1986, p. 173; DUNCAN, SOTELO, 1986, p. 118; DYE, MACDONALD, SMITH, 1978, p. 286; FAN et al., 1991, p. 1028; FELIX et al., 1987, p. 165; FERNANDEZ, URIBE, 1975, p. 630; GERECHT et al., 1989, p. 1281; GREGG, GIROLAMI, CARR-LOCKE, 1985, p. 669; GUNN, 1982, p. 302; HAMBRAEUS et al., 1990, p. 158; KEIGHLEY, 1977, p. 329; CSENDES, KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 530; KOSOWSKI, KARCZEWSKA, KASPROWICZ, 1987, p. 576; LEVINE, BOTET, KURTZ, 1990, p. 366; MALUENDA, 1989, p. 133; MARNE et al., 1986, p. 36; OHTO, 1984, p. 112;

PRÉVÔT et al., 1991, p. 690; RICHA, MARTIZ, 1985, p. 12; RUBINSTEIN et al., 1986, p. 215; SCOTT, 1971, p. 488; SUZUKI, KOBAYASHI, TORRES et al., 1993, p. 3; WELLS et al., 1989, p. 375). A contaminação da bile é um achado raro na candidíase sistêmica (IRANI, TRUONG, 1986, p. 1088; PATEL et al, 1990, p. 86). Em séries de achados de necrópsia, totalizando 508 casos, não há nenhuma referência de comprometimento biliar em pacientes portadores de candidíase sistêmica (ROSE, VARKEY, 1975, p. 461; SCHUMACHER,GINNS,WARREN, 1964, p. 318)

Pelo exposto acima, tem-se que a flora bacteriana encontrada nas vias biliares é basicamente constituída por bactérias comuns ao trato gastrointestinal. A forma pela qual as bactérias atingem as vias biliares é motivo de discussão na literatura, sendo as hipóteses principais: contaminação ascendente através da papila, via sistema porta, via circulação sistêmica e via linfática (FELIZ et al., 1987, p. 166; GREGG, GIROLAMI, CARR-LOCKE, 1985, p. 670; GUNN, 1982, p. 302; LEUNG, VENEZUELA, 1991, 220; LÖTVEIT, 1983, p. 35; SUNG et al., 1991, p. 313; SUZUKI, KOBAYASHI, OHTO, 1984, p. 113). Para cada uma destas hipóteses existem argumentos favoráveis e contrários.

Após a papilotomia endoscópica (GREGG, GIROLAMI, CARR-LOCKE, 1985, p. 670; KRATCH ET AL., 1986, p. 324; SAND et al., 1992, p. 326), anastomoses bilio-entéricas (LYKKERGAARD-NIELSEN, JUSTESEN, 1976, p. 443) e colocação de próteses intraluminais nas vias biliares (COTTON, 1990, p. 76), situações onde ocorre uma comunicação direta entre a luz duodenal e o colédoco sem a interposição da papila de Vater funcionando, a prevalência de colonização biliar aumenta significativamente. Este fato reforça a via de contaminação ascendente da bile.

A prevalência de colonização da bile é maior nas obstruções biliares incompletas se comparadas às completas, onde a via ascendente de contaminação está bloqueada (SUZUKI, KOBAYASHI, OHTO, 1984, p. 111). Estes autores compararam a prevalência de culturas bacterianas positivas da bile em pacientes portadores de obstrução neoplásica de colédoco.

Naqueles onde havia comprometimento da papila pela neoplasia a prevalência foi significativamente maior. Se por um lado estes achados podem ser considerados como argumentos a favor desta via de contaminação, por outro lado fica a questão de como as bactérias teriam acesso à via biliar na obstrução completa, se esta for a única forma de atingí-la (RUBINSTEIN, 1986, p. 217).

Estudos em que são relatadas culturas de sangue da veia porta, a prevalência de positividade neste local é baixa se comparada à prevalência de positividade na bile (FELIX et al., 1987, p. 166; HERDOEN, BEART, 1981, p. 539; SUNG et al., 1991, p. 316). Este achado contraria a hipótese de que a via portal seja uma via de contaminação biliar importante.

DINEEN (1964, p. 1007) testou a via de contaminação biliar em modelo animal injetando *Escherichia coli* na circulação sistêmica, linfáticos periduodenais e circulação portal. Concluiu que a última era a principal carreadora de bactérias ao fígado. Os resultados dos estudos em gatos realizados por SUNG et al. (1991, p. 315) reforçam esta conclusão. BERG e GARLINGTON (1979, p. 403) definiram translocação bacteriana como a passagem de bactérias viáveis do trato gastrointestinal para outros órgãos, como linfonodos mesentéricos, baço, fígado e sangue periférico. Desde então, numerosos estudos tem relatado os fatores que propiciam a translocação, tais como queimaduras extensas (DEITCH, 1986, 98), infecção (JONES et al., 1990, p. 400), atrofia intestinal (BARBER et al., 1991, p. 302; JONES et al., 1990, p. 400), inflamação sistêmica (MAINOUS et al., 1991, p. 34), antibioticoterapia (WELLS, JECHOREK, ERLANDSEN, 1990, p. 85; WELLS et al., 1987, p. 2691; WELLS et al., 1988a, p. 110; WELLS et al., 1988b, p. 1772;) , nutrição parenteral total (ALVERDY, AOYS, MOSS, 1988, p. 187), bagagem genética dos animais de experimentação (DEITCH et al., 1989, p. 1482; WELLS, JECHOREK, GILLINGHAM, 1991, p. 249), obstrução biliar (ALLEN et al., 1989, p. 974; DEITCH et al., 1990, p. 80; DING et al., 1993, p. 102) , uso de ácido ricinoleico via oral (MOREHOUSE et al., 1986, p. 677), obstrução intestinal (DEITCH, 1989, p. 670), diabete experimental (IMAI, KURHARA, 1984, p. 1347), multiplicação bacteriana intestinal (WELLS et

al., 1987, p. 2392; WELLS et al., 1988, p. 1772; DINEEN, 1964, p. 1005), endotoxemia (DEITCH, BERG, SPECIAN, 1987, p. 188), várias formas de trauma (MAEJIMA, DEITCH, BERG, 1984, p. 8) e isquemia intestinal (PAPA et al., 1983, p. 267; BAKER et al., 1988, p. 901). Estes estudos comprovam a possibilidade de passagem de bactérias intestinais às circulações portal e sistêmica e ao fígado. Segundo DEITCH, BERG e SPECIAN (1990, p. 244), a translocação bacteriana de trato gastrointestinal pode não ter significância clínica se as defesas do hospedeiro forem adequadas para controlar e erradicar as bactérias translocadas. Se as defesas antibacterianas do hospedeiro estiverem suficientemente diminuídas, então as bactérias translocadas poderão levar à infecção sistêmica. As células de Kupffer tem a função de remover as bactérias e toxinas provenientes do trato gastrointestinal (ALLEN et al., 1989, p. 976; KATZ et al., 1991a, p. 269; KATZ et al., 1991b, p. 403; MAIER, ULEVITCH, 1981, p. 170; MATHISON, ULEVITCH, 1979, p. 2135; McCUSKEY et al., 1987, p. 616; PAIN, 1987, p. 1093; REDAN et al., 1990, p. 666; RUITER et al., 1981, p. 40; SCOTT-CONNER et al., 1986, p. 681). SUNG et al. (1991, p. 315) investigaram especificamente a capacidade do fígado em remover bactérias do sistema porta em um modelo experimental em gatos. Demonstraram que as bactérias são excretadas na bile após a saturação dos mecanismos de depuração do sistema reticuloendotelial, concluindo que o sistema porta deve ser uma importante via de infecção biliar. SCOTT-CONNER et al. (1989, p. 211) demonstrou em animais de experimentação que na obstrução biliar os mecanismos fagocíticos estão depletados. RUBINSTEIN et al. (1986, p. 214) estudaram, simultaneamente, a bacteriologia da bile e do sangue coletado da veia porta. Dos 12 casos em que a cultura da bile foi positiva, 6 apresentaram também cultura positiva no sangue portal, sendo em 4 o mesmo tipo de bactéria. Outros autores já haviam, previamente, demonstrado a presença de bactérias no sangue portal (ONG, 1962, p. 63; SCHATTEN, DEPREZ, HOLDEN, 1955, p. 404).

BROOK (1987, p. 62), utilizando-se de um modelo em camundongos, estudou a capacidade dos *Bacteoides sp* e cocos anaeróbicos Gram positivos em disseminarem-se a

diversos órgãos a partir de abscessos subcutâneos. Conseguiu isolar estas bactérias em diversos órgãos, entre eles o fígado, em uma frequência de 3 a 39%. Conclui que bactérias circulantes são captadas nos órgãos com atividade reticuloendotelial, entre os quais o fígado. A circulação sistêmica, portanto, pode ser uma das vias de contaminação biliar.

Conforme o exposto acima, vê-se que existem argumentos sustentando as várias vias de contaminação biliar. Está ainda para ser estudado, qual a prevalência de cada uma delas para cada tipo de paciente (SINANAN, 1992, p. 573)

A presença de bactérias no tecido hepático é motivo de controvérsia. Alguns autores citam que nos pacientes com bactérias na bile da vesícula biliar, estas podem ser isoladas também no tecido hepático em 80% dos casos (KEIGHLEY, 1977, p. 329).

SBOROV et al. (1952, p. 987) realizou 66 culturas bacterianas de biópsias hepáticas de pacientes portadores de hepatite, esteatose, anemia hemolítica, amebíase, cirrose e fígado normal, encontrando dois casos positivos. Em um deles, a coleta foi realizada após o óbito do paciente, sendo isoladas diversas espécies bacterianas. No outro caso positivo, foi encontrada uma bactéria Gram negativa, aeróbica facultativa que os autores referiam como sendo muito semelhante a uma *Klebsiella*. STORMONT et al. (1959, p. 17), em estudo semelhante realizaram 20 culturas bacterianas de biópsias hepáticas em pacientes com doença hepatocelular. Encontraram um caso cuja cultura foi positiva em um paciente que apresentava também coledocolitíase. EDLUNG et al. (1959, p. 464) estudaram 305 pacientes classificados em diversos grupos, segundo o tipo de patologia biliar. Em 16 pacientes portadores de colecistite aguda, isolaram 3 casos de bactérias classificadas pelos autores no grupo de flora intestinal aeróbica e 3 classificados como anaeróbios. Nos 59 pacientes com colecistite crônica, encontraram 10 casos com culturas bacterianas positivas para flora anaeróbica e 2 positivos para flora intestinal aeróbica. Nos 11 pacientes com coledocolitíase, houve dois casos de culturas hepáticas positivas para flora anaeróbica e 1 para flora intestinal aeróbica. ENGSTRÖM et al. (1971, p. 179), estudando pacientes com patologias biliares, coletaram amostras de

diversos locais das vias biliares e do fígado. Em 49 biópsias hepáticas, obteve crescimento flora bacteriana classificada como da colônica em 4 casos. Destes, em três o crescimento bacteriano foi pequeno e em um foi moderado. Em nenhum caso obteve crescimento que classificasse como abundante, como encontrou na bile e na parede do colédoco e vesícula biliar. DYE, MACDONALD, e SMITH. (1978, p. 286) encontraram biópsias hepáticas cuja cultura bacteriana foi positiva em 4 de 75 pacientes. Em um deles isolou *Klebsiella aerogenes* que também foi encontrada na bile do colédoco. No restante dos pacientes com cultura de biópsia hepática positiva, foram identificadas bactérias anaeólicas.

1.4 JUSTIFICATIVA

As principais causas de morbidade e mortalidade em cirurgia biliar associam-se à infecção (GUNN, 1982, p. 301; MCSHERRY, GLENN, 1980, p. 271) e são mais prevalentes nos pacientes com bactérias na bile (LYGIDAKIS, 1982, p. 15; ROBSON, BOGART, HEGGERS, 1970, p. 471; STRACHAN, 1977, p. 1254). KEIGHLEY (1977, p. 329) relata uma incidência de septicemia em 16% e infecção ferida operatória em 38% dos pacientes com culturas bacterianas da bile positivas contra 5 e 10%, respectivamente, em pacientes com bile estéril. GUNN (1982, p. 304) apresentou resultados semelhantes, com 4,1% de septicemia e 6,5% de infecção de ferida operatória em pacientes com culturas bacterianas da bile positivas, e 0,5 e 1,5% respectivamente em pacientes com bile estéril. A identificação destes pacientes é importante, na medida em que este é o grupo que beneficia-se do uso de antibióticos profiláticos (GUNN, 1989, p. 304; KEIGHLEY, 1977, p. 330; KEIGHLEY, DRYSDALE, QUORAISHI, 1976, p. 497). Aí reside, portanto, a importância clínica da sua identificação no pré-operatório, que é o momento adequado para o início da profilaxia com antibióticos. Os meios disponíveis, conforme o exposto anteriormente, são a identificação dos fatores de risco, coleta de secreção duodenal ou biliar por endoscopia digestiva alta, bacterioscopia intraoperatória e coleta de bile por punção

transparietal. A cultura de biópsia hepática pode ser um recurso a mais desde que tenha comprovada a sua acurácia diagnóstica.

Nos casos onde a antibioticoterapia constitui o ponto principal do tratamento, é útil a identificação das bactérias infectantes e sua sensibilidade aos antibióticos. Também nestas situações a cultura da biópsia hepática pode somar-se aos meios já existentes.

1.5 OBJETIVOS

O estudo visa testar a acurácia diagnóstica da cultura bacteriana da biópsia e aspirado hepáticos coletados com agulha de Vinn Silverman na identificação da colonização bacteriana da bile de pacientes submetidos a cirurgia sobre a via biliar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRA

A população alvo do estudo são pacientes com potencial clínico de contaminação bacteriana da bile, independentemente da presença de sinais clínicos ou laboratoriais de infecção ou colonização.

A população amostrada foi constituída de pacientes submetidos a cirurgia eletiva de vias biliares no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Devido à indisponibilidade de realização de estudo bacteriológico em horários noturnos e finais de semana, não foram incluídos no estudo os pacientes operados nestes horários. Não foram incluídos pacientes operados em regime de urgência.

Os pacientes foram selecionados de forma a evitar as seguintes situações:

- risco de contaminação bacteriana por outra fonte que não a biliar durante o processo de coleta;
- intervenção medicamentosa no processo de resposta do hospedeiro à infecção;
- alterações anatômicas, histológicas ou funcionais hepáticas que modificassem sua circulação sanguínea ou linfática.

Assim, foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram pelo menos uma das condições abaixo:

- uso de antibióticos no período de até um mês antes da cirurgia;
- uso de corticosteróides ou outras drogas imunossupressoras até um mês antes da cirurgia;

-estudo anátomopatológico dos espécimes biopsiados demonstrando patologias parenquimatosas hepáticas;

-presença de patologias infecciosas intra-abdominais de outra origem que não a via biliar;

-presença de abscessos abdominais independente de sua origem;

- cultura bacteriana de sangue periférico positiva;

-recusa por parte do paciente em participar do estudo.

Todos os pacientes foram operados sob anestesia geral.

Para o cálculo do tamanho da amostra foi utilizado o programa Epi-Info versão 3.0 (1994). Foi estimada uma frequência de 80% de culturas positivas na biópsia e aspirado hepáticos entre os pacientes com bile colonizada por bactérias. O número de pacientes calculado para um intervalo de confiança de 99% e um poder estatístico de 80% foi 39 pacientes. Como as prevalências obtidas no estudo foram menores que as estimadas, ampliamos a amostra para 50 pacientes e calculamos o poder estatístico segundo a fórmula abaixo (KELSEY, THOMPSON, EVANS, 1986, p. 271). O resultado foi 97% (Anexo 1 - Cálculo do poder estatístico).

$$Z_{\beta} = [(n (\Delta^2) r) / (r+1) p (1-p)]^{1/2} - 1,96$$

2.2 DELINEAMENTO

O delineamento escolhido é um estudo transversal. Foram aferidos simultaneamente o fator em estudo, o padrão ouro do teste, os fatores de exclusão e os fatores de confusão

Foram definidos como fatores em estudo:

- cultura bacteriana da biópsia hepática coletada no intra-operatório de cirurgia biliar através de agulha de Vinn Silvermann;

- cultura bacteriana do material aspirado pela agulha de Vinn Silvermann após a coleta da biópsia hepática, denominado de aspirado hepático.

O padrão ouro escolhido para o teste é a cultura da bile do colédoco, coletado através de cateterização intra-operatória do ducto cístico ou punção direta do colédoco, nos pacientes previamente submetidos a colecistectomia.

Foram considerados fatores de confusão: uso de antibióticos profiláticos no pré-operatório, coledocolitíase, colecistite aguda recente, cirurgia de urgência, pacientes com idade acima de 70 anos, obstrução de vias biliares, calibre do colédoco aumentado, cirurgia prévia de vias biliares e manipulação endoscópica de vias biliares no pré-operatório. A conceituação para fins do estudo destes fatores estão relacionadas no item seguinte deste capítulo.

Não foram pesquisadas outras patologias nos pacientes estudados.

2.3 VARIÁVEIS

As variáveis coletadas foram definidas para fins deste estudo da forma que se segue:

2.3.1 Dados de identificação:

- Nome do paciente.
- Idade do paciente em anos.
- Número de registro do paciente no Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- Sexo do paciente.

2.3.2 Dados referentes à cirurgia:

2.3.2.1 Diagnóstico pré-operatório:

- Colecistite aguda: pacientes com dor abdominal persistente no hipocôndrio direito ou epigástrico. Ao exame, sinais de irritação peritoneal nas regiões acima. Sinal de Murphy presente. Diagnóstico ecográfico de colelitíase e de sinais inflamatórios agudos da vesícula biliar .
- Colecistite crônica litiásica: pacientes com história clínica de desconforto e dor epigástricos e náuseas após as refeições. Ecografia demonstrando colelitíase.
- Coledocolitíase: presença de cálculos de colédoco demonstrados através de ecografia, colangiografia ou outro método de imagem.
- Colangite: quadro clínico de icterícia, hipertermia, calafrios e dor em hipocôndrio direito. Ecografia ou colangiografia endoscópica retrógrada demonstrando obstrução de via biliar.
- Fístula biliar interna: comunicação espontânea de algum ponto da árvore biliar com a luz intestinal (duodeno, colon ou estômago) diagnosticada por métodos de imagem.
- Pancreatite biliar: litíase biliar associada a quadro de dor abdominal acompanhada de aumento da amilase ou lipase operados durante o quadro agudo. Aqueles levados a cirurgia após a normalização das provas laboratoriais serão classificados como colecistite crônica ou coledocolitíase.
- Estenose benigna de vias biliares: quadro clínico e laboratorial de icterícia obstrutiva com comprovação radiológica ou ecográfica de estenose biliar. História de cirurgia biliar prévia.
- Estenose neoplásica das vias biliares: quadro clínico de icterícia obstrutiva com comprovação ecográfica ou radiológica associada ao achado intra-operatório de neoplasia com biópsias positivas.

2.3,2,2 Data da cirurgia

2.3.2.3 Tipo de cirurgia

- **Colecistectomia:** excisão da vesícula biliar sem a exploração da via biliar principal (coledocotomia) com realização de colangiografia intra-operatória.

- **Colecistectomia e coledocostomia:** colecistectomia seguida de exploração da via biliar (coledocotomia) para retirada de cálculos e colocação de dreno em T.

- **Anastomose bilio-digestiva:** derivação do fluxo biliar para a luz intestinal através de anastomose entre dois segmentos quaisquer dos mesmos.

- **Papiloplastia:** exploração trans-duodenal da papila de Vater seguida de esfínterectomia e sutura das mucosas coledociana e duodenal.

- **Papilotomia:** exploração da papila de Vater seguida de esfínterectomia.

- **Duodenopancreatectomia:** extirpação em bloco da cabeça do pâncreas, duodeno, colédoco terminal e parte do estômago.

2.3.3 Fatores de risco para colonização e infecção biliar (fatores de confusão):

Os fatores associados a maior prevalência de culturas biliares positivas foram assim definidos:

- **Coledocolitíase:** diagnosticada através de ecografia pré-operatória, colangiografia pré ou intra-operatória ou achado de exame palpatório intra-operatório do colédoco.

- **Colecistite aguda litiásica:** colelitíase associada a alterações ao exame anátomo patológico características de processo inflamatório agudo (ROSAI, 1989, p. 741).

- **Colecistite aguda nas últimas 4 semanas:** dado coletado da anamnese do paciente. São consideradas colecistites agudas os quadros de dor abdominal em hipocôndrio

direito ou epigástrico e que persistam ininterruptamente por mais de 24 horas que, simultânea ou posteriormente, tenha sido demonstrada a presença de colelitíase.

- Cirurgia de urgência: pacientes com quadro clínico de colecistite aguda levados a cirurgia dentro das primeiras 24 horas da primeira consulta pelo quadro.
- Idade acima de 70 anos.
- Obstrução de vias biliares: quadro clínico e laboratorial de icterícia obstrutiva com comprovação ecográfica ou radiológica de dilatação das vias biliares.
- Dilatação de colédoco: colangiografia intra-operatória demonstrando calibre do colédoco acima de 10 mm.
- Cirurgia de via biliar no passado.
- Colangiopancreatografia endoscópica retrógrada nos últimos 30 dias que antecederam a cirurgia.

2.3.4 Resultados dos estudos bacteriológicos:

Os resultados da cultura da bile do colédoco e da vesícula biliar, da biópsia e do aspirado hepáticos e do sangue periférico serão apresentados através de uma listagem das bactérias isoladas e sua sensibilidade aos antibióticos.

2.3.5 Antibióticos profiláticos

Foram considerados como antibióticos profiláticos aqueles instituídos na ausência de infecção diagnosticada no pré-operatório, com o objetivo de diminuir a incidência de complicações infecciosas pós-operatórias. O início da administração dos mesmos ocorreu ou no período pré-operatório imediato ou no intra-operatório.

A ficha utilizada para a coleta das variáveis acima expostas está apresentada no Anexo 2 - Ficha do paciente..

2.4 COLETA DE DADOS

A coleta de dados iniciou-se em novembro de 1991 e foi concluída em outubro de 1994. Todas as coletas foram realizadas pessoalmente pelo autor.

Os pacientes portadores de patologia de via biliar submetidos a cirurgia sob nossa participação, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre e não enquadrados nos fatores de exclusão acima expostos, foram incluídos no estudo.

O primeiro passo foi a coleta de sangue periférico em veia do membro superior para realização de hemocultura. O procedimento era realizado após a indução anestésica, durante a abertura da cavidade abdominal. Um segmento amplo do membro era embrocado com solução alcoólica de iodo a 10%, seguindo-se a punção venosa e coleta, em condições assépticas, de 5 ml de sangue. A amostra era injetada em frasco contendo meio de cultura de caldo de tripnase-soja em ambiente anaeróbico.

Imediatamente após a abertura da cavidade abdominal e excluídos os demais fatores de exclusão de identificação intra-operatória, procedia-se a punção biópsia hepática com agulha de Vinn Silvermam. O segmento escolhido para biópsia foi o segmento IV, junto ao ligamento falciforme aproximadamente 2 cm da borda inferior do fígado. A escolha deste local de punção deveu-se ao fato de aí ficar localizado um afastador durante a cirurgia, cuja compressão propiciava o tamponamento de qualquer eventual sangramento. A técnica de punção utilizada foi: punção com mandril até uma profundidade de aproximadamente 2 cm, retirada do mandril e colocação do dispositivo cortante da agulha e excisão do fragmento hepático. Nos casos de material insuficiente, o procedimento foi repetido em local próximo ao original. Metade do material era separado e fixado em formol a 10% para estudo anatomo-patológico. A outra metade colocada em frasco previamente preparado e esterilizado em óxido de etileno contendo 1 ml de solução fisiológica.

Após a retirada da biópsia hepática acoplava-se à agulha de Vinn Silvemam uma seringa de 20 ml. O material aspirado desta forma era constituído, em todos os casos, por sangue. Todo o conteúdo aéreo da seringa era eliminado e a agulha vedada.

Seguia-se a punção da vesícula biliar com agulha fina aspirando-se de 5 a 10 ml de bile. Todo o conteúdo aéreo da seringa era eliminado e a agulha vedada.

Após a dissecação do ducto cístico, era introduzido cateter plástico estéril de calibre 4-6 French até que sua extremidade estivesse localizada na luz coledociana. Por aspiração era coletada bile coledociana em um volume não inferior a 2 ml. Todo o conteúdo aéreo da seringa era eliminado e a agulha vedada.

As cinco amostras (sangue periférico biópsia hepática, aspirado hepático, bile da vesícula biliar, bile do colédoco) eram identificadas com o nome e número de registro do paciente e natureza do material e enviadas, imediatamente após o término da coleta para o serviço de bacteriologia para semeadura. As amostras coletadas em seringa eram enviadas na própria seringa ao laboratório. A equipe de bacteriologistas do Serviço de Microbiologia iniciavam o processamento do material assim que este desse entrada no serviço.

A bile da vesícula, do colédoco e do aspirado hepático foram submetidas a culturas aeróbicas e anaeróbicas. A cultura aeróbica seguiu a seguinte rotina: 0.05 ml do material foi semeado em placa de agar-triptinase-soja enriquecido com sangue humano desfibrinado a 5%; 0.05 ml semeados em placas de agar-MacConkey. Estas placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C. Após 24 horas, as que mostraram crescimento bacteriano foram semeadas em meios de cultura de identificação convencionais. As placas com ausência de crescimento foram reincubadas e, somente após 48 horas consideradas negativas. A cultura anaeróbica seguiu a seguinte rotina: 0,05 ml do material foi semeado em caldo de tioglicolato enriquecido com vitamina K-hemina a 1%; 0.05 ml foi semeado em meio de agar-Brucella enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro e de vitamina K-hemina a 1%. Outra amostra foi semeada em meio de agar-fenil-etanol também enriquecido da mesma forma do

anterior. Estes meios de cultura foram colocados em jarra em atmosfera isenta de oxigênio e em estufa a 37°C. Após 48 horas, as colônias foram repicadas para meios de cultura convencionais de identificação bacteriana anaeróbica. (MURRAY, CITRON, 1991, p. 493)

As biópsias hepáticas foram homogeneizadas em triturador de tecido e diluído em solução de tioglicolato a 1:10. Após isto, seguiu o mesmo processo dos demais materiais coletados.

As bactérias cultivadas foram identificadas através de reações bioquímicas convencionais ou pelo sistema informatizado VITEK. (VITEK SYSTEMS, 1990)

As bactérias cultivadas foram submetidas a estudo de sensibilidade aos antibióticos, antibiograma, pelo método de difusão em agar, técnica de Kirby e Bauer (BAUER et al., 1966, p. 493) segundo preconizado pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS)* (NATIONAL COMMITTE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARTS, 1988).

2.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram codificados e armazenados em banco de dados utilizando programa dBase-III Plus. A estrutura do banco de dados está disposta no Anexo 3 - Banco de dados. Consta no Anexo 4 - Codificação, a codificação adotada para o seu preenchimento..

A análise foi feita através de pacotes estatísticos Epi Info 6.0 (1994). Serão listadas frequências das variáveis descritas, e construídas tabelas de dupla entrada para as associações, utilizando-se testes de Fisher bicaudal e χ -quadrado com correção de Yates para os dados qualitativos. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de p menores que 0,05.

A associação entre fatores de risco e resultado da cultura bacteriana do colédoco foi avaliada por tabela de frequência, e teste de regressão logística múltipla.

A concordância entre os fatores em estudo entre si - cultura da biópsia hepática e aspirado hepático - foram avaliadas pelos teste de Kappa.

A acurácia diagnóstica do teste foi medida pelo cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo e razão de verossimilhança. O cálculo da sensibilidade foi obtido com a divisão do número de pacientes com os testes (cultura da biópsia e aspirado hepáticos) e padrão-ouro (cultura da bile do colédoco) positivos pelo número de pacientes com o padrão-ouro positivo. O cálculo da especificidade foi obtido com a divisão do número de pacientes com os testes e padrão-ouro negativos pelo número de pacientes com o padrão-ouro negativo. O cálculo do valor preditivo positivo foi obtido pela divisão do número de pacientes com teste e padrão-ouro positivos sobre o número de pacientes com o teste positivo. O cálculo do valor preditivo negativo foi obtido pela divisão do número de pacientes com o teste e o padrão-ouro negativos pelo número de pacientes com o teste negativo. Foram calculados os intervalos de confiança de 95% dos mesmos (FLETCHER, FLETCHER, WAGNER, 1991, p. 82)³.

³ O cálculo do intervalo de confiança foi calculado pela seguinte fórmula:

$$p \pm 1,96 [(p - (1 - p)) / n]^{1/2}$$

p = proporção observada

n = número de indivíduos observado

3 RESULTADOS

3 RESULTADOS

Entraram inicialmente no estudo 57 pacientes. Sete deles foram excluídos pelas seguintes razões: três por apresentarem hemocultura positiva, um por extravio do material no transporte do bloco cirúrgico ao laboratório de microbiologia, um por contaminação durante a coleta das amostras, um pelo diagnóstico anátomo-patológico de cirrose e hipertensão portal e um pelo diagnóstico intra-operatório de neoplasia maligna irressecável da vesícula biliar. Portanto, o estudo constituiu-se de 50 pacientes.

Nos pacientes estudados, encontramos 39 mulheres (78%) e 11 homens (22%).

A Tabela 1 mostra a distribuição da população por faixa etária. A idade variou de 16 a 82 anos. A média de idade na população foi de 45,74 anos, o desvio padrão 15,26 e a mediana 46 anos.

Tabela 1. Distribuição da população segundo a faixa etária.

FAIXA ETÁRIA	n	%
15 - 24	3	6
25 - 34	10	20
35 - 44	9	18
45 - 54	14	28
55 - 64	7	14
65 - 74	5	10
75 - 84	2	4
Total	50	100

A Tabela 2 mostra a distribuição da população segundo o diagnóstico pré-operatório, no qual baseou-se a indicação cirúrgica. A maior parte dos pacientes (96%) foi levada à cirurgia

com o diagnóstico de colecistite crônica. Em 13, estava associada à coledocolitíase. Havia um caso de colecistite aguda e um de estenose de colédoco secundária a colecistectomia prévia.

Tabela 2. Distribuição da população segundo o diagnóstico pré-operatório.

DIAGNÓSTICO PRÉ-OPERATÓRIO	n	%
colecistite crônica	35	70
colecistite crônica e coledocolitíase	13	26
colecistite aguda	1	2
estenose de colédoco	1	2
Total	50	100

A Tabela 3 mostra as cirurgias realizadas. A cirurgia realizada com maior frequência foi a colecistectomia em 36 (72%) pacientes. Em 13 outros, a colecistectomia foi acompanhada de exploração do colédoco para procura ou retirada de cálculos nesta localização. Um paciente já havia sido submetido previamente à colecistectomia e foi submetido a uma anastomose bilio-digestiva.

Tabela 3. Distribuição da população segundo o tipo de cirurgia realizada.

TIPO DE CIRURGIA	n	%
colecistectomia	36	72
colecistectomia e coledocostomia	9	18
colecistectomia e anastomose bilio-digestiva	2	4
colecistectomia, coledocostomia e papiloplastia	2	4
anastomose bilio-digestiva	1	2
Total	50	100

Foram utilizados antibióticos profiláticos em 28 pacientes, o que constituiu 56% da população amostrada. O antibiótico usado em todos os casos foi a cefalotina.

A Tabela 4 mostra as freqüências dos fatores de risco para colonização bacteriana da bile. Coledocolitíase foi o fator de risco de maior prevalência, com 13 casos, seguido pela colecistite aguda, com 7 casos. O número de pacientes com colecistite aguda nesta tabela é diferente do da Tabela 2, tendo em vista os critérios de classificação em cada uma delas. Na Tabela 2, tem-se o diagnóstico clínico pré-operatório; na Tabela 4, acrescenta-se às informações pré-operatórias os achados intra-operatórios e resultado de exame anátomo-patológico.

Tabela 4. Distribuição dos fatores de risco para a presença de colonização bacteriana da bile.

FATORES DE RISCO	n	%
ausentes	29	58
coledocolitíase	13	26
colecistite aguda	7	14
idade maior que 70 anos	3	6
dilatação de colédoco	3	6
obstrução de vias biliares	1	2
colangiopancreatografia endoscópica retrógrada	1	2
cirurgia prévia de via biliar	1	2

Não foi identificado nenhum fator de risco em 29 pacientes, o que constituiu 58% da população amostrada. Quatorze pacientes apresentaram apenas um fator de risco. Oito deles tinham coledocolitíase e os outros seis colecistite aguda. Seis pacientes apresentaram dois fatores de risco simultaneamente. Destes seis, cinco tinham coledocolitíase associada à idade maior do que 70 anos em dois casos, dilatação de colédoco em dois casos e colangiopancreatografia endoscópica retrógrada no último caso. O sexto paciente tinha

colecistite aguda e idade maior do que 70 anos. Um paciente apresentou três fatores de risco simultaneamente, quais sejam, obstrução de colédoco, dilatação de colédoco e cirurgia prévia de via biliar.

Foram isoladas bactérias na bile do colédoco em 9 pacientes. A Tabela 5 mostra as espécies bacterianas identificadas. Um paciente teve duas espécies bacterianas isoladas simultaneamente, que foram *Klebsiella oxytoca* e *Klebsiella pneumoniae*. Um paciente teve três espécies isoladas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Streptococcus α-haemolítico*. Em todos os demais foram isoladas uma espécie bacteriana. Não foram isoladas bactérias anaeróbicas.

Tabela 5. Frequência das espécies bacterianas isoladas na bile do colédoco.

ESPÉCIES BACTERIANAS	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	33,3
<i>Escherichia coli</i>	2	16,7
<i>Streptococcus faecalis</i>	2	16,7
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	16,7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	8,3
<i>Streptococcus α-haemolítico</i>	1	8,3
Total	12	100,0

Em 7 pacientes foram isoladas bactérias na bile da vesícula biliar. Todos apresentaram uma espécie bacteriana cada. Em todos os casos foi isolada a mesma espécie bacteriana na bile do colédoco. A Tabela 6 mostra as espécies bacterianas identificadas neste local. Na vesícula biliar não foram isoladas bactérias anaeróbicas.

Em dois pacientes, foram isoladas bactérias na biópsia hepática. Em um deles foi identificada *Klebsiella pneumoniae*. Na bile do colédoco deste paciente foram identificadas *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*. Estas duas espécies bacterianas também foram

isoladas no aspirado hepático do mesmo paciente. Este foi o único caso onde foram isoladas bactérias no aspirado hepático em toda a série. Em outro paciente onde houve crescimento bacteriano na biópsia hepática identificou-se *Staphylococcus epidermidis*. Neste caso não houve crescimento bacteriano nas culturas de nenhum outro sítio pesquisado. A Tabela 7 apresenta todos os pacientes que apresentaram cultura positiva em algum dos sítios pesquisados. A primeira coluna refere-se ao número de ordem do paciente na série. As demais colunas referem-se aos locais de coleta da amostra submetida a estudo bacteriológico.

A Tabela 8 mostra a resistência bacteriana aos antibióticos. As linhas da tabela referem as espécies bacterianas isoladas a cada paciente e as colunas, os antibióticos usados no teste. As bactérias isoladas nos pacientes número 6, 12, 13, 37, 41, 45 e 46 tiveram o mesmo perfil de sensibilidade aos antibióticos testados. No paciente número 31 foram isoladas *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*. A primeira foi isolada nas amostras de bile do colédoco, da biópsia hepática e do aspirado hepático. O seu perfil de sensibilidade aos antibióticos de cada um destes locais amostrados diferiu em dois dos antibióticos testados, que foram o cloranfenicol e a ceftriaxone. A *Klebsiella oxytoca* isolada neste paciente apresentou mesmo perfil de sensibilidade aos antibióticos nos dois locais onde foi encontrada.

Tabela 6. Frequência das espécies bacterianas isoladas na bile da vesícula biliar.

ESPÉCIES BACTERIANAS	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	33,3
<i>Streptococcus faecalis</i>	2	33,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	33,3
<i>Escherichia coli</i>	1	16,7
Total	7	100,0

A Tabela 9 mostra a associação entre a cultura da bile do colédoco e a presença de fatores de risco para colonização bacteriana da bile. Dos 9 pacientes onde foram isoladas bactérias no colédoco, 7 (77,8%) eram portadores de pelo menos um fator de risco. Dos 21 pacientes portadores de fatores de risco, em 7 (33,3%) foram isoladas bactérias no colédoco. Dos 29 pacientes sem fatores de risco, 27 tiveram a cultura da bile do colédoco negativa. A associação entre a cultura da bile do colédoco e a presença de fatores de risco foi estatisticamente significativa pelo teste de Fischer bicaudal, com um valor de p igual a 0,02.

Tabela 7. Relação dos pacientes com culturas positivas de acordo com o local de coleta da amostra submetida a cultura bacteriana.

Nº DO PACIENTE	LOCAL DE COLETA DA AMOSTRA			
	COLÉDOCO	VESÍCULA BILIAR	BIÓPSIA HEPÁTICA	ASPIRADO HEPÁTICO
4	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Streptococcus α-haemolítico</i>			
6	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>		
12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
13	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>		
18			<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
31	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
37	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>		
41	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
45	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>		
46	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>		

Tabela 8. Resistência bacteriana aos antibióticos segundo a espécie bacteriana isolada e local de coleta da amostra.

	ANTIBIÓTICOS																		
	A M I C A C I N A	C E F O X I T I N A	C E F T A Z I D I M E	C E F T R I A X O N E	C E F A L O S P O R I N A S	G E N T A M I C I N A	A M P I C I L I N A	C A R B E N I C I L I N A	C I P R O F L O X A C I N A	I M I P E N E N	T E T R A C I C L I N A	S U L F A - T R I M E T R O P I N	C L O R A N F E N I C O L	P E N I C I L I N A	E R I T R O M I C I N A	C L I N D A M I C I N A	O X A C I L I N A	V A N C O M I C I N A	
ESPÉCIES BACTERIANAS																			
paciente 4																			
<i>Escherichia coli</i> (c)	S	S	-	-	R	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (c)	S	S	-	-	R	S	R	-	-	-	R	S	R	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus. α haemolítico</i> (c)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	S	S	S	S	S
paciente 6																			
<i>Streptococcus faecalis</i> (c)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S
<i>Streptococcus faecalis</i> (v)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S
paciente 12																			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (c)	S	S	-	-	S	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (v)	S	S	-	-	S	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
paciente 13																			
<i>Streptococcus faecalis</i> (c)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	S	R	R	R	S
<i>Streptococcus faecalis</i> (v)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	S	R	R	R	S
paciente 17																			
<i>Staphilococcus epidermidis</i> (b)	-	-	-	-	S	-	S	-	-	-	-	S	-	S	S	S	S	S	S
paciente 31																			
<i>Klebsiella oxytoca</i> (c)	S	S	-	-	R	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i> (a)	S	S	-	-	R	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (c)	R	S	-	-	S	S	R	-	-	-	S	S	R	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (b)	R	S	-	-	S	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (a)	R	S	-	-	R	S	R	-	-	-	S	S	S	-	-	-	-	-	-
paciente 37																			
<i>Enterobacter cloacae</i> (c)	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> (v)	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
paciente 41																			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (c)	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (v)	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
paciente 45																			
<i>Escherichia coli</i> (c)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (v)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	-	-	-	-	-
paciente 46																			
<i>Enterobacter cloacae</i> (c)	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> (v)	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	-	-	-	-	-	-	-

(c) amostra da bile do colédoco
(v) amostra da bile da vesícula biliar
(b) amostra da biópsia hepática-
(a) amostra do aspirado hepático

S bactéria sensível ao antibiótico testado
R bactéria resistente ao antibiótico testado
- antibiótico não testado

Tabela 9. Associação entre presença de fatores de risco e cultura bacteriana da bile do colédoco.

CULTURA DA BILE DO COLÉDOCO			
FATORES DE RISCO	positiva	negativa	Total
presentes	7	14	21
ausentes	2	27	29
Total	9	41	50

A Tabela 10 mostra o resultado da cultura bacteriana da bile do colédoco segundo a presença de cada um dos fatores de risco para colonização bacteriana da bile pesquisados. Todos os pacientes com idade acima de 70 anos, ou tendo realizado colangiopancreatografia endoscópica retrógrada, apresentaram bile do colédoco com cultura positiva. Trinta e oito e meio por cento dos pacientes com coledocolitíase, que foi o fator de risco de maior prevalência, apresentaram culturas da bile positivas. Segundo o teste de regressão logística múltipla, a dilatação de colédoco apresentou um risco relativo de 4,04 para um intervalo de confiança de 1,00 a 16,35. Foi o único destes a constituir um fator independente de risco ($p = 0,049$).

A Tabela 11 mostra a associação entre o uso de antibióticos profiláticos e a presença de fatores de risco para colonização bacteriana da bile. O teste do χ^2 -quadrado com a correção de Yates demonstrou que a associação é estatisticamente significativa para um p igual a 0,00003.

Tabela 10. Resultado da cultura bacteriana da bile do colédoco segundo os fatores de risco para colonização bacteriana da bile.

FATORES DE RISCO	CULTURA DA BILE DO COLÉDOCO				Total
	positiva		negativa		
	n	%	n	%	
coledocolitíase	5	38.5	8	61.5	13
idade acima de 70 anos	3	100	-	-	3
colecistite aguda	2	28.6	5	71.4	7
dilatação de vias biliares	2	66.7	1	33.3	3
cirurgia prévia de vias biliares	-	-	1	100	1
obstrução de vias biliares	-	-	1	100	1
colangiopancreatografia endoscópica retrógrada	1	100	-	-	1
ausência de fatores de risco	2	6.9	27	93.1	29

Tabela 11. Associação entre presença de fatores de risco e uso de antibióticos profiláticos

FATORES DE RISCO	ANTIBIÓTICO PROFILÁTICO		Total
	sim	não	
presentes	17	4	21
ausentes	5	24	29
Total	22	28	50

A Tabela 12 mostra a associação entre cultura de bile do colédoco e o uso de antibióticos profiláticos. A associação foi estatisticamente significativa pelo teste de Fischer bicaudal para um p igual a 0,03.

Tabela 12. Associação entre uso de antibióticos profiláticos e cultura bacteriana da bile do colédoco.

ANTIBIÓTICO PROFILÁTICO	CULTURA DA BILE DO COLÉDOCO		Total
	positiva	negativa	
sim	7	15	22
não	2	26	28
Total	9	41	50

A Tabela 13 mostra a associação entre as culturas da bile do colédoco e da vesícula biliar. Um dos pacientes do estudo havia sido submetido previamente a colecistectomia, portanto o total geral desta tabela é de 49 pacientes. Os pacientes com cultura da bile do colédoco negativa tiveram a bile da vesícula biliar também negativa. Em dois dos 9 pacientes com cultura da bile do colédoco positiva, a cultura da bile da vesícula biliar foi negativa. A sensibilidade da cultura da bile da vesícula biliar em diagnosticar a presença de bactérias na bile foi 0,77 com um intervalo de confiança de 0,65 a 0,89. A especificidade foi 1. O valor preditivo positivo 1 e o valor preditivo negativo 0,95 com um intervalo de confiança de 0,89 a 1.

Tabela 13. Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e da vesícula biliar.

BILE DA VESÍCULA	BILE DO COLÉDOCO		Total
	positiva	negativa	
positiva	7	0	7
negativa	2	40	42
Total	9	40	49

A Tabela 14 mostra a associação entre as culturas da bile do colédoco e da biópsia hepática. A biópsia hepática também foi positiva em um dos 9 pacientes cuja cultura foi positiva na bile do colédoco. Dos 41 pacientes com cultura da bile do colédoco negativa, em um a

biópsia hepática foi positiva. A sensibilidade da cultura da biópsia hepática foi 0,11 com um intervalo de confiança de 0,02 a 0,20. A especificidade 0,98 com um intervalo de confiança de 0,93 a 1. O valor preditivo positivo 0,50 com um intervalo de confiança de 0,36 a 0,64. O valor preditivo negativo 0,83 com um intervalo de confiança de 0,73 a 0,93. A razão de verossimilhança para a biópsia hepática positiva é de 4,56 e para a negativa de 0,91.

Tabela 14. Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e da biópsia hepática.

BIÓPSIA HEPÁTICA	BILE DO COLÉDOCO		Total
	positiva	negativa	
positiva	1	1	2
negativa	8	40	48
Total	9	41	50

A Tabela 15 mostra a associação entre as culturas da bile do colédoco e do aspirado hepático. Assim como na biópsia hepática, entre os 9 pacientes cuja cultura foi positiva na bile do colédoco, em um o aspirado hepático também foi positivo. Todos os 41 pacientes com cultura da bile do colédoco negativa foram negativos também no aspirado hepático. A sensibilidade da cultura do aspirado hepático foi 0,11 com um intervalo de confiança de 0,02 a 0,20. A especificidade 1. O valor preditivo positivo 1. O valor preditivo negativo 0,84 com um intervalo de confiança de 0,74 a 0,94. A razão de verossimilhança para o aspirado hepático negativo é de 1,13. Para o aspirado hepático positivo não foi possível calcular devido ao valor de zero na primeira linha da Tabela 15.

Tabela 15. Associação entre as culturas bacterianas da bile do colédoco e do aspirado hepático.

ASPIRADO HEPÁTICA	BILE DO COLÉDOCO		Total
	positiva	negativa	
positiva	1	0	1
negativa	8	41	49
Total	9	41	50

A Tabela 16 mostra a associação entre as culturas da biópsia hepática e aspirado hepático. Houve discordância entre os resultados em um dos 50 pacientes estudados. Neste caso, a cultura da biópsia foi positiva para *Staphilococcus epidermidis* na biópsia hepática e o aspirado hepático foi negativo. Todas as demais amostras coletadas deste paciente foram negativas. A medida da concordância entre as culturas da biópsia hepática e do aspirado hepático pelo teste de Kappa foi 97,9%.

Tabela 16. Associação entre as culturas bacterianas da biópsia e aspirado hepáticos.

ASPIRADO HEPÁTICO	BIÓPSIA HEPÁTICA		Total
	positiva	negativa	
positivo	1	0	1
negativo	1	48	49
Total	2	48	50

4 DISCUSSÃO

4 DISCUSSÃO

4.1 OS PACIENTES

Os pacientes incluídos no presente estudo foram tratados eletivamente no Serviço de Cirurgia Geral do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Na sua totalidade consultaram previamente o ambulatório de cirurgia geral e tiveram a sua cirurgia agendada com antecedência mínima de uma semana. A população amostrada demonstra as características mais frequentes em pacientes portadores de litíase biliar: incidência maior no sexo feminino, idade média na quinta década de vida, cálculos restritos à vesícula biliar na maior parte dos pacientes (70% dos casos), coledocolitíase em 1/4 dos pacientes (DIEHL, 1991, p. 2). A cirurgia mais prevalente foi a colecistectomia, que, rotineiramente em nosso serviço é acompanhada de colangiografia intra-operatória.

4.2 FATORES DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.

Foram adotados critérios de exclusão de forma a selecionar os pacientes que:

- não apresentassem contaminação bacteriana externa às vias biliares pela presença de outro foco infeccioso intra-abdominal;
- estivessem usando qualquer tipo de droga que interferisse na resposta à infecção, como os corticoesteróides ou imunossupressores;
- estivessem em uso ou tivessem usado até recentemente antibióticos, o que poderia influir na positividade das culturas bacterianas;

- apresentassem alterações histológicas hepáticas associadas a alterações do fluxo sanguíneo portal e da bile;

- apresentassem bactérias viáveis na circulação sistêmica, o que poderia representar outro foco infeccioso ou contaminação na coleta;

-recusassem em participar do estudo.

Os critérios de exclusão usados mantiveram no estudo aqueles pacientes cuja via biliar era a única fonte provável de contaminação bacteriana. Os pacientes com hemocultura positiva, independentemente da fonte de infecção foram excluídos. Com isto, foram excluídos tanto pacientes com fonte de infecção na via biliar como em outros locais. Os pacientes foram submetidos a pelo menos um de vários procedimentos capazes de provocar bacteremias transitórias, como entubação oro-traqueal, cateterismo vesical, punções venosas no período imediatamente anterior ou durante a cirurgia. Não excluindo estes casos, não poderíamos associar os achados positivos da cultura da biópsia e aspirado hepáticos com as bactérias da bile.

A adoção destes critérios de exclusão restringe a validade externa do estudo. Os seus resultados tem aplicação restrita a pacientes na vigência de colangite dada a alta prevalência de hemoculturas positivas neste grupo (BRENNER et al., 1987, p. 84; CHEW et al., 1986, p. 173; CSENDES et al., 1988, p. 698; FAN et al., 1991, p. 1029; FLEMMA, FLINT, OSTERHOUT, 1967, p. 564; GERECHT et al., 1989, p. 1283; LEWIS et al., 1987, p. 46; RAPER et al., 1989, p. 356; SCOTT, 1971, p. 489; SUNG et al., 1991, p. 315). A extensão dos resultados a este grupo específico de pacientes mereceria um estudo em separado.

Conforme exposto anteriormente, pacientes com colangite foram excluídos do estudo pela presença de hemocultura positiva. Pacientes operados em regime de urgência foram excluídos pela impossibilidade de realização adequada das culturas bacterianas em horários noturnos e finais de semana, o que determinou uma prevalência baixa de pacientes com

colecistite aguda. Nestas três categorias de pacientes a prevalência de colonização bacteriana da bile é elevada (KEIGHLEY, 1977, p. 329) e a sua exclusão pode ter contribuído para diminuir a prevalência geral na população amostrada. Os valores preditivos de um teste sofrem influência da prevalência de casos positivos e, portanto, podem estar alterados em função da seleção adotada (FLETCHER, FLETCHER, WAGNER, 1991, p. 84).

4.3 O PADRÃO-OURO.

O padrão ouro escolhido no estudo foi a cultura da bile do colédoco coletada por cateterização do ducto cístico no intra-operatório. Esta forma de coleta de bile é considerada adequada e representativa, desde que tomados os cuidados necessários (CLAESSON, 1986, p. 102). Há várias outras formas de coleta da bile coledociana com o objetivo de obter material para cultura bacteriana: punção percutânea, punção direta no intraoperatório, coleta por dreno em T, aspiração duodenal, canulação endoscópica da via biliar (BABU et al., 1988, p. 94; CLAESSON, 1986, p. 102; HATFIELD, 1982, p. 121; KEIGHLEY, 1977, p. 329; SUZUKI et al., 1984, p. 111). Dentre elas a que está menos sujeita a contaminação externa é a punção direta do colédoco no intra-operatório, desde que a cavidade abdominal esteja livre de bactérias. Esta técnica não foi considerada neste estudo pela sua potencial morbidade quando não é seguida de coledocotomia. PALACIOS et al. (1991, p. 22) estudaram 63 pacientes portadores de coledocolitíase, colangite e colecistite crônica com o objetivo de identificar parâmetros bacteriológicos para predizer o grau de severidade de infecções biliares. Optaram pela punção direta como forma de obtenção de bile do colédoco, mesmo nos pacientes portadores de colecistite crônica, nos quais não estava prevista a exploração cirúrgica das vias biliares. Apresentaram em sua casuística uma incidência de 4.7% de fístula biliar pós-operatória que foi atribuída à punção coledociana. É referida ainda na literatura o risco de estenose biliar associado à punção do colédoco (CLAESSON, 1986, p. 102). A coleta pelo dreno em T não se

aplicava aos propósitos deste estudo por várias razões: primeiro a coleta se restringiria aos pacientes que fossem submetidos à coledocolomia seguida da colocação do dreno, segundo não poderiam ser coletadas, simultaneamente, todas as amostras e finalmente a colocação do dreno em T provoca alterações quantitativas e qualitativas no perfil bacteriano da bile, o que alteraria os resultados (DYE, MACDONALD, SMITH, 1978, p. 286; KEIGHLEY et al., 1974, p. 579; KEIGHLEY, 1977, p. 329; KIRSHENBAUM, 1978, p. 326; SILENT, WETHEIMER). A aspiração endoscópica ou percutânea acrescentaria desnecessariamente morbidade à coleta das amostras.

A cultura da bile da vesícula biliar tem sido considerada como representativa da bile coledociana (CLAESSON, HOLMLUND, MÄTZSCH, 1984, p. 330; KEIGHLEY, 1977, p. 329). Segundo KEIGHLEY (1977, p. 329) a concordância entre as culturas de bile do colédoco e vesícula biliar é absoluta. DYE, MACDONALD e SMITH (1978, p. 286) encontraram prevalências diferentes de culturas positivas comparando o colédoco e a vesícula biliar. No grupo de pacientes portadores de coledocolitíase, estes autores obtiveram culturas positivas na bile do colédoco em 75% dos pacientes e na bile da vesícula biliar em 56%. Nos pacientes com obstrução de ducto cístico, a bile do colédoco foi positiva em 14%, contra 30% da bile da vesícula biliar. Em pacientes com colecistite crônica sem obstrução cística, a frequência de cultura positiva na bile do colédoco foi de 50% e na bile da vesícula biliar 46%. Na Tabela 13 está demonstrada a associação das culturas de bile do colédoco e vesícula biliar no presente estudo. Os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo demonstram que a cultura da vesícula biliar é um teste de elevada acurácia para detecção de colonização bacteriana, não chegando, entretanto, a uma associação completa. A Tabela 13 mostra a presença de dois casos de falso negativo nas culturas de bile da vesícula biliar. Não houve em nenhum caso cultura positiva na vesícula biliar e negativa no colédoco, o que poderia significar que a cultura do colédoco não foi sensível o bastante para detectar a presença de

bactérias nas vias biliares. Estes achados reforçam a escolha do colédoco como padrão ouro do teste, conforme o adotado neste estudo.

Fazendo uma comparação das espécies bacterianas isoladas na bile do colédoco e da vesícula biliar (Tabela 7), nota-se que houve culturas positivas coincidentes nos pacientes número 6, 12, 13, 31, 37, 41, 45 e 46. Nestes casos foram isoladas *Streptococcus faecalis* (pacientes 4 e 13), *Klebsiella pneumoniae* (pacientes 12 e 41), *Enterobacter cloacae* (pacientes 37 e 46) e *Escherichia coli* (paciente 45). As culturas foram positivas somente na bile do colédoco nos pacientes 4 e 31, onde foi isolada *Klebsiella pneumoniae* (pacientes 4 e 31), *Escherichia coli* e *Streptococcus α -haemolítico* (paciente 4) e *Klebsiella oxytoca* (paciente 31). O fato de não ter havido crescimento bacteriano na bile da vesícula biliar nestes pacientes não parece dever-se à natureza das bactérias isoladas, já que em outros casos estas mesmas espécies foram isoladas na bile coledociana e vesicular. Além disso, são espécies frequentemente isoladas na bile, independentemente do local de coleta (Tabela 1). A exceção é o *Streptococcus α -haemolítico*, que é uma espécie dificilmente encontrada na bile e facilmente isolada por contaminação no momento da coleta ou processamento do material.

4.4 O SÍTIO DE ORIGEM DAS BACTÉRIAS ISOLADAS.

Uma premissa básica de estudos envolvendo associação de culturas bacterianas de diferentes sítios, é que as bactérias isoladas devam partilhar determinadas características para serem consideradas de origem comum. A determinação do sorotipo tem sido um dos métodos mais comumente usados na avaliação do fenotipo bacteriano (ARBEIT et al., 1990, p.230). É considerado um método eficaz na identificação de bactérias de mesma linhagem (ARBEIT et al., 1990, p.231; CAUGANT, 1989, p. 410; PLOS et al., 1989, p. 1607). A sensibilidade bacteriana aos antibióticos tem uma acurácia menor que a determinação do sorotipo (ARBEIT et al., 1990, p.230). Isto ocorre porque muitos genes que determinam a resistência bacteriana aos

antibióticos localizam-se em elementos genéticos, tais como plasmídios que são facilmente adquiridos ou perdidos na multiplicação bacteriana, coexistindo em um mesmo sítio, sejas com diferentes respostas aos antibióticos (COUTURIER, BERGQUIST, MAAS, 1988, p. 379; LUPSKI, 1987, p. 360). Para evitar as incertezas destes métodos baseados no fenótipo bacteriano, foram desenvolvidas metodologias baseadas no genótipo (ARTHUR et al., 1989, p. 307; BERG, SQUIRES, 1981, p. 410; SELANDER et al., 1986, p. 880; SMITH, 1986, p. 47). No delineamento deste estudo optamos pela utilização da sensibilidade aos antibióticos pela simplicidade e disponibilidade do método em nosso meio. A análise da Tabela 8 demonstra que a mesma espécie bacteriana, isolada em diferentes sítios no mesmo paciente, apresentou espectro de resistência aos antibióticos muito semelhantes. Somente no paciente número 17, foi isolada *Klebsiella pneumoniae* cuja sensibilidade diferiu em um dos antibióticos testados. Para fins do estudo, consideramos esta diferença como consequência das limitações do método aplicado e aceitamos que se trate de bactérias de origem comum.

4.5 AS PREVALÊNCIAS DAS CULTURAS BACTERIANAS.

A prevalência de culturas bacterianas da bile positivas no presente estudo foi de 9 em 50 pacientes. A maior parte das casuísticas publicadas revela uma prevalência entre 16 e 32% dos casos (CLAESSON, 1986, p. 95), embora extremos como 11 e 100% possam ser encontrados, dependendo da seleção dos pacientes estudados (ADEDEJI et al., 1986, p. 508; ALLOUCH ET AL., 1988, p. 691; BABU et al., 1988, p.93; BRENNER et al., 1988, p. 46; BROOK, 1989, p. 2374; CATANZANO, 1989, p. 358; CHEW et al., 1986, p. 173; CLAESSON et al., 1986, p. 94; CSENDES et al., 1975, p. 630; CSENDES et al., 1988, p. 698; DUNCAN e SOTERO, 1986, p. 177; DYE et al., 1978, p. 286; FAN et al., 1991, p. 1030; FELIX et al., 1987, p. 163; FLEMMMA et al., 1967, p. 566; GERECHT et al., 1989, 1280; GREGG et al., 1985, p. 670; HAMBRAEUS et al., 1990, p. 156; KEIGHLEY et al., 1974, p. 579; KEIGHLEY et al., 1976c, p.

497; KEIGHLEY et al., 1977, p. 329; KOWOSKI et al., 1987, p. 576; LAI et al., 1989, p. 270; LEE et al., 1992, p. 347; LEVINE et al., 1990, p. 365; LEWIS et al., 1987, p. 45; MALUENDA et al., 1989, p. 133; MARNE et al., 1986, p. 35; PALACIOS et al., 1991, p. 20; PERROTTA, 1990, p. 70; PRÉVÔT et al., 1991, p. 690; RICHA e MARTIZ, 1985, p. 12; RUBINSTEIN et al., 1986, p. 214; SAUTER et al., 1990, p. 165; SCOTT, 1971, p. 487; SILENT et al., 1978, p. 326; SUZUKI et al., 1984, p. 110; TORRES et al., 1993, p. 2; VETENCOURT, 1983, p. 243; WELLS et al., 1989, p. 375; YIO et al., 1992, p. 1002). No delineamento deste estudo, prevíamos uma prevalência de culturas bacteriana positivas da bile em aproximadamente 30% dos casos, tendo em vista que o Serviço de Cirurgia Geral do Hospital de Clínicas de Porto Alegre é um serviço de referência de pacientes em nível estadual, para onde são encaminhados pacientes de maior gravidade, que tem uma chance maior de ter a bile colonizada por bactérias. O estabelecimento dos critérios de exclusão, anteriormente discutidos, provavelmente provocou uma diminuição desta prevalência na população amostrada se comparada à totalidade dos pacientes operados por patologia biliar neste hospital. Não foi incluído na presente casuística nenhum paciente portador de colangite e nenhum paciente operado em regime de emergência por suspeita de perfuração vesicular, que são fatores associados à prevalência elevada de bactérias na bile (BRENNER et al., 1987, p. 84; CSENDES et al., 1988, p. 698; FLEMMA, FLINT, OSTERHOUT, 1967, p. 564; KEIGHLEY, 1977, p. 329; LEWIS et al., 1987, p. 45; SCOTT, 1971, p. 489; FAN et al., 1991, p. 1030; SUNG et al., 1991, p. 314). A prevalência encontrada, menor do que a esperada, fez com que ampliássemos a população amostrada de forma a alcançar um poder estatístico que validasse as conclusões.

Dentre os fatores de risco estudados o único em que a regressão logística múltipla identificou como fator independente de risco foi a dilatação do colédoco. O valor de p é limítrofe para o nível de significância definido para o estudo, portanto o limite inferior do seu intervalo de confiança do risco relativo é igual a 1,00. A não significância dos demais fatores de risco estudados pode ter sido influenciada pelo número de pacientes estudados .

Na Tabela 9 estão agrupados todos os fatores de risco estudados e é feita a associação com o resultado da cultura bacteriana da bile do colédoco. A identificação de fatores de risco e a sua associação com culturas positivas está amplamente documentado na literatura (ALLOUCH et al., 1988, p. 692; BABU et al., 1988, p. 94; CLAESSION, 1986, p. 95; CSENDES et al., 1988, p. 698; DUNCAN, SOTELO, 1986, p. 117; KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 530; LEWIS et al., 1987, p. 46; PALACIOS et al., 1991, p. 23; RICHA, MARTIZ, 1985, p. 12; SAUTER et al., 1990, p. 166; TORRES, et al., 1993, p. 3; WELLS et al., 1989, p. 375). No grupo de 21 pacientes portadores de pelo menos um fator de risco, encontramos uma prevalência de culturas bacterianas positivas de 33,3%. Nos 29 pacientes sem fatores de risco, a prevalência foi de 6,7%. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa pelo teste de Fischer bicaudal. A literatura consultada relata prevalências que variam de 31 a 87% nos pacientes de alto risco e de 11 a 19% nos de baixo risco (CLAESSION, 1986, p. 95; KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 530; LEWIS et al., 1987, p. 46; WELLS et al., 1989, p. 375). As prevalências por nós encontradas, mesmo menores do que da literatura consultada, demonstram que na população amostrada a presença de fatores de risco associa-se a maior prevalência de culturas bacterianas da bile positivas.

Diversas publicações demonstraram que a prevalência de colonização da bile associa-se à idade mais avançada do paciente (ALLOUCH et al., 1988, p. 692; BABU et al., 1988, p. 94; DUNCAN, SOTELO, 1986, p. 117; KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 530; LEWIS et al., 1987, p. 46; WELLS et al., 1989, p. 375;). Os primeiros autores a sistematizarem o estudo dos fatores de risco foram KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS (1976, p. 530), através de análise multivariada de várias características de 181 pacientes e o seu estudo vem sendo tomado como base para os que se seguiram. Estes autores adotaram o ponto de corte para a idade nos 70 anos. Idade acima de 70 anos, segundo sua análise, constitui um fator independente de risco para colonização bacteriana da bile. LEWIS et al. (1987, p. 46) em seu estudo envolvendo 230 pacientes, dividiram-nos em três categorias: alto e baixo risco e

portadores de colangite. Encontraram médias de idade diferenciadas nestes três grupos, sendo a mais baixa (48 anos) no grupo de baixo risco. No grupo de alto risco a média de idade foi de 64 anos e no grupo de pacientes com colangite, 74 anos. Analisando os mesmos dados de outra forma, identificaram que a prevalência de culturas bacterianas positivas alterava-se de acordo com a idade dos pacientes. Aqueles com menos de 30 anos apresentaram uma prevalência próxima a zero. Os com idade de 30 a 60 anos apresentaram prevalência em torno de 10%. Pacientes com idade entre 60 e 70 anos apresentaram prevalência de 39%, os com idade entre 70 e 80 anos, 69% e os com idade entre 80 e 90 anos, 63%. Mesmo sabendo que os pacientes mais idosos têm uma chance maior de apresentar patologias biliares complicadas, concluíram que a idade por si só constitui um fator independente de risco. BABU et al. (1988, p. 94), estudando 55 pacientes submetidos à cirurgia sobre as vias biliares, relataram uma prevalência crescente com a idade: 37,5% na terceira década, 50% na quarta, 68,7% na quinta, 70% na sexta e 80% na sétima. Fica demonstrado por estes seus achados, que a prevalência aumenta progressivamente com a idade dos pacientes. Portanto, ao escolher idade acima de 70 anos como fator de risco, estamos apenas determinando um ponto de corte neste crescimento progressivo. Todos os pacientes com idade acima de 70 anos por nós analisados tiveram culturas da bile positivas.

4.6 AS ESPÉCIES BACTERIANAS ISOLADAS

Os estudos de bacteriologia das vias biliares demonstram que o tipo de flora é característico do trato gastrointestinal predominando a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis* e *Enterobacter sp.* (Tabela 1). Algumas variações são encontradas neste espectro de acordo com a seleção dos pacientes estudados (CLAESSON, 1986, p. 95). A flora bacteriana por nós isolada está de acordo com os resultados da literatura, sendo as bactérias mais prevalentes a *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* e

Enterobacter cloacae (Tabela 5). Foi encontrado um caso de *Streptococcus α-haemolítico* no colédoco, que não é uma bactéria habitual das vias biliares. A sua presença pode estar associada à contaminação durante a coleta ou manipulação no laboratório. O mesmo pode ter ocorrido com a cultura de biópsia hepática do paciente número 4, onde foi isolado *Staphilococcus epidermidis*. Neste caso, a biópsia hepática foi o único sítio onde houve crescimento bacteriano, o que reforça a hipótese de contaminação.

Em nossa casuística, não foram isoladas bactérias anaeróbicas. A prevalência de culturas positivas para bactérias anaeróbicas na literatura varia de 0 a 40%, segundo o tipo de seleção de pacientes e o rigor na técnica de coleta, transporte e cultura empregadas (CLAESSON, 1986, p. 95; ENGLAND, ROSEMBLATT, 1977, p. 496; LYKKERGAARD-NIELSEN, JUSTESEN, 1976, p. 430; MARNE et al., 1986, p. 37;). Há relatos de estudos desenvolvidos na mesma instituição onde a prevalência de bactérias anaeróbicas varia de 1 a 27%, segundo o tipo de seleção de pacientes (FARNELL, HEERDEN, BEART, 1981, p. 537; LYKKERGAARD-NIELSEN, JUSTESEN, 1976, p. 430). Os pacientes por nós estudados foram submetidos à cirurgia eletiva. Os portadores de colangite, onde a prevalência de bactérias anaeróbicas é maior, não cumpriram os critérios de inclusão no estudo, conforme o exposto anteriormente. Tínhamos apenas um caso de paciente submetido à cirurgia prévia de via biliar, que é também um fator associado a maior prevalência de bactérias anaeróbicas (BORGALULT et al., 1979, p. 1347). A técnica empregada controlou os principais fatores que interferem nos resultados de culturas anaeróbicas para as amostras de bile: o material coletado foi acondicionado na própria seringa livre da presença de ar, com a ponta vedada; a semeadura foi realizada dentro de no máximo 30 minutos após a coleta, houve controle do meio de anaerobiose durante a incubação das amostras e o material foi tratado no laboratório com especial cuidado, fora dos procedimentos de rotina. Estas medidas são consideradas eficazes para a obtenção de dados fiéis (MARNE et al., 1986, p. 38; MURRAY, CITRON, 1991, 493). As amostras sólidas, que foram as biópsias hepáticas, não foram transportadas em ambiente livre de oxigênio. Além

disto, durante a sua trituração, antes da sementeira, há um aumento da exposição ao ambiente aeróbico. Neste caso, a técnica empregada pode ter contribuído para as culturas anaeróbicas negativas. Alguns autores optaram pela utilização de outros meios de cultura, como o caldo de cérebro-fígado e por um tempo de incubação mais longo (DYE, MACDONALD, SMITH, 1978, p. 285; EDLUNG, MOLLSTEDT, OUCHTERLONY, 1958/1959, p. 464). Estes fatores também podem ter influenciado nos resultados.

4.7 OS ANTIBIÓTICOS PROFILÁTICOS.

O uso de antibióticos profiláticos tem sua efetividade documentada na literatura, reduzindo a incidência de infecção de ferida operatória de 11-21% para 0-6% (CLAESSON, 1986, p. 96; GUNN, 1982, p. 301), de abscessos abdominais e de septicemia (KEIGHLEY, 1977, p. 330; GUNN, 1982, p. 302). Alguns autores propõem que a profilaxia com antibióticos deva ser instituída somente nos pacientes portadores de fatores de risco para colonização bacteriana da bile (KEIGHLEY, FLINN, ALEXANDER-WILLIAMS, 1976, p. 530). Este uso seletivo dos antibióticos profiláticos baseia-se no fato de que a sua efetividade em reduzir a incidência de infecção de ferida operatória restringe-se a este grupo de pacientes (GUNN, 1982, p. 302; KEIGHLEY et al., 1975, p. 277, LEWIS et al., 1987, p. 46). O objetivo da profilaxia é a proteção contra a disseminação hemática e por contato das bactérias presentes na bile, e não a esterilização da bile (CLAESSON, 1986, p. 96). O uso de antibióticos de pobre excreção biliar e elevada concentração sérica, como a gentamicina, provou ser mais efetivo que a rifamicina que apresenta elevadas concentrações biliares e baixas concentrações séricas (KEIGHLEY, 1977, p. 330). A sua utilização dentro de parâmetros adequados não interfere no rendimento das culturas de bile (BABU et al., 1988, p. 94; CLAESSON, HOLMLUND, MÄTZSCH, 1984, p. 331) podendo ser efetivos sem atingir concentrações inibitórias mínimas neste sítio (KEIGHLEY, 1977, p. 331). Se tomarmos apenas as culturas de bile do colédoco, o padrão ouro, vê-se que

há uma frequência de uso de antibiótico profilático maior nos indivíduos portadores de culturas positivas neste sítio. Esta diferença foi estatisticamente significativa pelo teste de Fischer ($p = 0,03$) (Tabela 12). A Tabela 11 demonstrou que existe uma associação estatisticamente significativa entre a presença de fatores de risco e o uso de antibióticos profiláticos. Daí a razão pela qual os pacientes que usaram antibiótico tenham apresentado maior prevalência de culturas bacterianas positivas no colédoco.

4.8 A CULTURA DA BIÓPSIA E ASPIRADOS HEPÁTICOS.

Os dados das Tabelas 14 e 15 revelam que a cultura da biópsia e do aspirado hepáticos, neste estudo, apresentam uma sensibilidade baixa (0,11) e uma especificidade alta (0,98 para a biópsia e 1 para o aspirado). Os valores preditivos negativos foram equivalentes nos dois testes (0,83 para a biópsia e 0,84 para o aspirado hepático). Houve uma diferença entre os valores preditivos positivos, que foi de 0,50 para a biópsia e 1 para o aspirado. Nenhum dos resultados localizou-se dentro do intervalo de confiança do outro. Na avaliação da diferença destes resultados deve ser considerado que o número total de pacientes para o cálculo do valor preditivo positivo na biópsia hepática foi 2 e no aspirado hepático 1, e, portanto, os resultados obtidos foram em muito influenciados pelo pequeno número de pacientes. O teste de Kappa, aplicado nos dados da Tabela 16, demonstra que houve concordância elevada entre os achados dos dois métodos (97,9%), o que já era aparente pela comparação entre os valores da sensibilidade, especificidade e valor preditivo negativo. Assim, os resultados obtidos para a biópsia e aspirado hepáticos são equivalentes no que diz respeito a sua acurácia diagnóstica.

A razão de verossimilhança para a biópsia hepática positiva é 4,56 e negativa 0,91. Para o aspirado hepático negativo é 1,13. No aspirado hepático positivo não é possível calcular porque a segunda casela da tabela de dupla entrada é igual a zero (Tabela 15). A interpretação destes dados é de que a chance da cultura da biópsia ser positiva é 4,6 vezes maior no

PROBABILIDADE DO RESULTADO DO TESTE EM PAC COM A DOENÇA
SEN

indivíduo com cultura da bile do colédoco positiva do que no indivíduo com bile estéril. A chance do indivíduo com bile estéril ter uma biópsia com cultura negativa é 0,91 vezes a do indivíduo com bile colonizada. A chance do indivíduo com bile estéril ter um aspirado hepático com cultura negativa é 1,13 vezes a do indivíduo com bile colonizada. Vê-se, então, que usando a razão de verossimilhança para comparação dos dois testes, conclui-se que ambos tem acurácia diagnóstica semelhante. Os resultados da razão de verossimilhança não fazem nada além de dar um outro enfoque para os valores da sensibilidade, especificidade e valores preditivos.

Qual a utilidade clínica dos testes? Em que sentido eles poderiam auxiliar uma decisão terapêutica de instituir o uso de antibióticos e escolher o tipo de antibiótico? Sabe-se pelos resultados obtidos, que aproximadamente em 1 de cada 10 pacientes com bactérias na bile, a cultura da biópsia e dos aspirado hepáticos são positivas (sensibilidade de 0,11). Portanto, somente nestes pacientes o teste tem utilidade clínica. Nos demais, que deveriam usar antibióticos por terem bactérias na bile, os testes não foram sensíveis o bastante para detectá-los. Assim, a baixa sensibilidade dos testes limita significativamente a sua utilidade clínica.

A comparação das prevalências de culturas de biópsia hepática com os dados da literatura revela algumas discordâncias. Os dados de SBOROV et al. (1952, p. 987) e STORMON et al. (1959, p. 17) apresentam uma seleção de pacientes diferente da adotada no presente estudo, o que impede a comparação dos resultados.

EDLUNG et al. (1959, p. 464) encontraram prevalência de culturas de biópsias hepáticas que variaram de 24,4% e 5% de acordo com a técnica de biópsia, cultura e transporte utilizadas. O grupo de pacientes por eles estudados é comparável ao do presente estudo no que diz respeito ao tipo de patologia que apresentavam. As biópsias foram feitas por secção em cunha do fígado, diferentemente da técnica por nós utilizada. Este tipo de biópsia oferece uma quantidade maior de tecido para a cultura bacteriana. Além disto, as bactérias anaeróbicas localizadas na intimidade de um tecido hepático mais abundante têm uma probabilidade maior de ficar protegidas do ambiente aeróbico até o momento da sementeira. O tempo de incubação

utilizado por estes autores foi de 12 dias em uma das técnicas e 14 em outra. Em nosso estudo, utilizamos 48 horas. Na técnica com incubação de 14 dias, que foi quando obtiveram as maiores prevalências de culturas positivas, imediatamente após a coleta, todas as amostras eram colocadas em meio líquido de cérebro-fígado-coração. Este meio é rico e favorece o crescimento de bactérias aeróbicas e anaeróbicas (MURRAY, CITRON, 1991, p. 493). Estes procedimentos eliminaram as limitações por nós encontradas quanto ao transporte das biópsias hepáticas em meio anaeróbico, comentadas anteriormente.

ENGSTRÖN et al. (1971, p. 180) encontraram culturas bacterianas de biópsias hepáticas positivas em 8,2% dos 49 pacientes. Não há referência de como foi realizado o transporte do material até o seu processamento no laboratório. Os meios de cultura utilizados foram equivalentes aos usados em nosso estudo. O período de incubação em caldo de tioglicolato utilizado por estes autores foi de 240 horas. Em concordância com os resultados por nós obtidos, não foram encontradas bactérias anaeróbicas neste estudo.

DYE et al. (1978, p. 286) isolaram bactérias em 4 de 75 pacientes estudados (5,3%). Todos os espécimes coletados foram transportados ao laboratório em ambiente anaeróbico. Usaram para cultura o meio de infusão de cérebro-coração. Os demais meios são equivalentes aos por nós utilizados (MURRAY, CITRON, 1991, p. 493). Não há referência quanto ao tempo de incubação utilizado.

As diferenças das prevalências de culturas positivas da biópsia hepática por nós encontradas e pelos autores acima citados pode, então, ter sofrido a influência de: técnica de coleta da biópsia hepática, meio anaeróbico para transporte ao laboratório, tempo de incubação, uso de caldo de cérebro-coração como meio de cultura. Para a confirmação desta hipótese é necessário que desenvolvam-se novos estudos onde haja uma comparação entre as técnicas bacteriológicas empregadas.

5 CONCLUSÃO

5 CONCLUSÃO

A cultura da biópsia e aspirado hepáticos com a técnica empregada no estudo demonstrou uma acurácia diagnóstica baixa. A sua utilidade clínica na identificação de pacientes portadores de bactérias na bile é limitada.

Deve ser definido, no futuro, se a causa dos resultados obtidos está na técnica empregada na biópsia, transporte e cultura das amostras. Para tanto, deverão se desenvolver novos estudos com este objetivo.

ANEXOS

ANEXO 1 - CÁLCULO DO PODER ESTATÍSTICO

p_1 = proporção de indivíduos expostos com o fator em estudo (número de indivíduos com cultura da biópsia hepática e bile do colédoco positiva dividido pelo número de indivíduos com cultura da biópsia hepática positiva)

p_2 = proporção de indivíduos não expostos com a doença (número de indivíduos com cultura da bile do colédoco positiva e cultura da biópsia negativa dividido pelo número de indivíduos com cultura da biópsia hepática negativas)

R = razão entre indivíduos expostos não expostos (número de indivíduos com cultura da biópsia hepática positiva dividido pelo número de indivíduos com cultura da biópsia hepática negativa)

Fórmulas:

$$p = (p_1 + R p_2) / (1 + R)$$

$$q = 1 - p$$

$$\Delta = p_1 - p_2$$

$$Z_\beta = [(n (\Delta^2) r) / (r+1) p (1-p)]^{1/2} - 1,96$$

$$P = 1 - p (Z_\beta)$$

Cálculo:

$$p_1 = 1 / 2 = 0,5$$

$$p_2 = 8 / 49 = 0,17$$

$$\Delta = 0,33$$

$$R = 2 / 48 = 24$$

$$p = (0,5 + 1 * 0,17) / (1 + 24) = 0,18$$

$$Z_\beta = [(50 (0,33^2) 24) / (24 + 1) 0,18 (1 - 0,18)]^{1/2} - 1,96 = 0,82$$

$$P = 0,98$$

ANEXO 2 - FICHA DO PACIENTE

1. Identificação Data:...../...../.....

1.1. Nome:.....

1.2. Registro:..... 1.3. Idade:..... 1.4. Sexo:.....

2. Cirurgia

- 2.1. Diagnóstico pré-operatório
1. colecistite aguda litiásica
 2. colecistite aguda alitiásica
 3. colecistite crônica litiásica
 4. coledocolitíase
 5. colangite
 6. fístula biliar interna
 7. pancreatite biliar
 8. estenose benign. de v. biliares
 9. estenose neopl. se v. biliares
 10. Outras:.....

- 2.2. Tipo de cirurgia
1. colecistectomia
 2. colecistectomia e coledocostomia
 3. anastomose bilio-degestiva
 4. papiloplastia
 5. papilotomia
 6. duodenopancreatectomia
 7. Outras:.....

3. Fatores de risco para colonização/infecção

1. coledocolitíase
2. colec. aguda recente
3. cirurgia de urgência
4. idade acima de 70 anos
5. obstrução de vias biliares
6. calibre do colédoco aumentado
7. cirurgia de via biliar prévia
8. Outros:.....

3.1. Antibiótico profilático

1. sim:.....
2. não

4. Estudo bacteriológico:

Bactéria	Antibiograma
4.1. Bile da vesícula	
a).....
b).....
c).....
d).....
3.2. Bile do colédoco	
a).....
b).....
c).....
d).....
3.3. Punção biópsia	
a).....
b).....
c).....
d).....
3.4. Aspirado hepático	
a).....
b).....
c).....
d).....
3.5. Sangue portal	
a).....
3.6. Sangue periférico	
a).....
Observações:.....

ANEXO 3 - BANCO DE DADOS

Número de registros: 36

Campo	Nome do Campo	Tipo	Tamanho
1	Data	Date	8
2	Nome	Character	30
3	Registro	Numeric	7
4	Idade	Numeric	2
5	Sexo	Numeric	1
6	Patolcir1	Numeric	1
7	Patolcir2	Numeric	1
8	Tipcir1	Numeric	1
9	Tipcir2	Numeric	1
10	Antibiotic	Numeric	1
11	Fatorisco1	Numeric	2
12	Fatorisco2	Numeric	2
13	Fatorisco3	Numeric	2
14	Bacvesic1	Character	10
15	Bacvesic2	Character	10
16	Bacvesic3	Character	10
17	Baccoled1	Character	10
18	Baccoled2	Character	10
19	Baccoled3	Character	10
20	Bacbiop1	Character	10
21	Bacbiop2	Character	10
22	Bacbiop3	Character	10
23	Bacaspr1	Character	10
24	Bacaspr2	Character	10
25	Bacaspr3	Character	10
26	Hemocult1	Character	10
27	Hemocult2	Character	10
28	Hemocult3	Character	10
29	Observação	Memo	10

ANEXO 4 - CODIFICAÇÃO

1. Data: dia/mes/ano
2. Nome: nome por extenso
3. Registro: número de registro no Hospital de Clínicas de Porto Alegre
4. Idade: (em anos)
5. Sexo:
 1. masculino
 2. feminino
6. Patolcir: (diagnóstico pré-operatório)
 1. colecistite aguda litiásica
 2. colecistite aguda alitiásica
 3. colecistite crônica litiásica
 4. coledocolitíase
 5. colangite
 6. fístula biliar interna
 7. pancreatite biliar
 8. estenose benigna de vias biliares
 9. estenose maligna de vias biliares
7. Tipcir: (tipo de cirurgia)
 1. colecistectomia
 2. coledocotomia
 3. papiloplastia
 4. papilotomia
 5. duodenopancreatectomia
 6. anastomose bilio-digestiva
8. Antibiotic: (antibiótico profilático)
 1. sim
 2. não
9. 10. 11. Fatrisco(1,2,3): (fatores de risco)
 1. coledocolitíase
 2. colecistite aguda recente
 3. cirurgia de urgência
 4. idade acima de 70 anos
 5. obstrução de vias biliares
 6. calibre do colédoco aumentado
 7. cirurgia de vias biliares prévia
 8. manipulação endoscópica de vias biliares recente.

Demais campos preenchidos da seguinte forma: quando negativas as culturas, os campos devem ser deixados em branco; as bactérias serão codificadas como:

- e coli
- k pneum
- s fecal

- proteus
- enterob
- s b hemo
- strep
- staf au
- bac frag
- clostr
- str anaer

Nos diferentes campos cada bactéria será acrescida de um número para identificar as sepas de igual sensibilidade ao antibiograma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADEDEJI, A; ROTIMI, V. O.; AKANDE, B. et al. The bacterial flora of gallbladder bile among nigerians. *East African Medical Journal*, v. 63, n. 8, p. 507-511, agosto 1986.
2. ALLEN, Melody O.; WILTON, Peter B.; BARKE, Rod A. et al. Effects of biliary obstruction on hepatic clearance of bacteria. *Archives of Surgery*, v. 124, p. 973-977, ago. 1989.
3. ALLOUCH, P.; MATHONNET, D.; LEGUÉ, E. et al. Bactériologie des voies biliaires et antibioprophylaxie. *Pathologie Biologie*, v. 36, n. 5, p. 690-693, 1988
4. ALVERDY, John C.; AOYS, Eric; MOSS, G. S. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery*, v. 104, n. 2. p. 185-190, 1988.
5. ARBEIT, Robert D.; ARTHUR, Michel; DUNN, Roberta et al. Resolution of recent evolutionary divergence among *Escherichia coli* from related lineages: the application of pulsed field eletrophoresis to molecular epidemiology. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 161, p. 230-235, 1990.
6. ARTHUR, M.; JOHNSON, C. E.; RUBIN, R. H. et al. Molecular epidemiology of adhesin and hemolysin virulence factors among uropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, v. 57, p. 303-313, 1989.
7. BABU, J. S.; BOSE, S. M.; WIG J. D. et al. Biliary bacterial flora in surgical patients with biliary tract disease. *Indian Journal of Gastroenterology*, v. 7, n. 2, p. 93-94, 1988
8. BAKER, J. W.; DEITCH, E. A.; BERG, R. et al. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. *Journal of Trauma*, v. 28, p. 896-906, 1988.
9. BAINTON, D.; DAVIES, G. T.; EVANS, K. T. Gallbladder disease. Prevalence in a south Wales industrial town. *New England Journal of Medicine*, v. 294, p. 1147-1149, 1976.

10. BARBARA, L.; SAMA, C.; LABATA, A. N. M. A population study on the prevalence of gallstone disease: the Sirmione study. *Hepatology*, v. 7, p. 913-917, 1987.
11. BARBER, Annabel E.; JONES, William G.; MINEI, Joseph P et al. Bacterial overgrowth and intestinal atrophy in the etiology of gut barrier failure in the rat. *The American Journal of Surgery*, v. 161, p. 300-304, fevereiro 1991.
12. BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. et al. Antibiotics susceptibility testing by single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, p. 493, 1966.
13. BERG, K. L.; SQUIRES, C. In vivo translation of a region within the *rrnB* 16S rRNA gene of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, v. 169, p. 1691-1701, 1981.
14. BERG, R. D.; GARLINGTON, A. W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infection and Immunity*, v. 23, p. 403-411, 1979.
15. BOURGAULT, A. M.; ENGLAND, D. M.; ROSEMBLATT, J. E. et al. Clinical characteristics of anaerobic bacteribilia. *Archives of Internal Medicine*, v. 139, p. 1346-1349, 1979.
16. BRENNER, Sérgio, WIEDERKEHR, Júlio C., MARCHESINI, João B. et al. Bacterioscopia transoperatória em cirurgia de vias biliares. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 14, n. 2, p. 83-86, mar./abr. 1987.
17. _____. O uso profilático de antibiótico em cirurgia de vias biliares. *Revista Médica do Paraná*, v. 44, n. 3/4, p. 45-48, julho/dezembro 1986.
18. BROOK, Itzhak. Aerobic and anaerobic microbiology of biliary tract disease. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, n. 10, p. 2373-2375, out. 1989.
19. _____. Bacteremia and seeding of capsulate *Bacteroides spp.* and anaerobic cocci. *The Journal of Medical Microbiology*, v. 23, n. 1, p. 61-67, 1987.

20. CATANZANO, C.; DE PALMA, G. D.; MANGUSO, L. et al. Risultati della biliocoltura dopo prelievo selettivo dalla via biliare principale (V.B.P.) per mezzo de cateterismo perendoscopico. *Minerva Medica*, v. 80, n. 4, p. 357-361, abr. 1989.
21. CAUGANT, D. A.; LEVIN, B. R.; ORSKOV, I. et al. Genetic diversity in relation to serotype in *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, v. 49, p. 407-413, 1989.
22. CETTA, Francesco. The role of bacteria in pigment gallstone disease. *Annals of Surgery*, v. 213, n. 4, p. 315-326, abr. 1991.
23. CHEW, R. K. H.; LIM, S.; CHENG, C. et al. Acute cholangitis in Singapore. *Annals Academy of Medicine of Singapore*, v. 15, n. 2, p. 172-175, abr. 1986.
24. CLAESSION, B. E. B.; HOLMLUND, D.; MÄTZSCH, T. Biliary microflora in acute cholecystitis and the clinical implications. *Acta Chirurgica Scandinavica*, v. 150, p. 229-237, 1984.
25. CLAESSION, Berndt E.B. Microflora of the biliary tree and liver - clinical correlates. *Digestive Diseases*, v. 4, p. 93-118, 1986.
26. COTTON, P. B. Management of malignant bile duct obstruction. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 5, 63-77, 1990.
27. COUTURIER, M.; BERGQUIST, P.; MAAS, W. Identification and classification of bacterial plasmids. *Bacteriolog Reviews*, v. 52, p. 375-395, 1988.
28. CSENDES, Attila; FERNANDEZ, Maria;URIBE, Pedro. Bacteriology of the gallbladder bile in normal subjects. *The American Journal of Surgery*, v. 129, p. 629-631, jun. 1975.
29. CSENDES, Attila,; SEPÚLVEDA, Alfredo; BURDILES, Patricio et al. Common bile duct pressure in patients with common bile duct stones with or without acute suppurative cholangitis. *Archives of Surgery*, v. 123, p. 697-699, jun. 1988.

30. DEITCH, Edwin A.; MA, Li; MA, Jing-Wen et al. Lethal burn-induced bacterial translocation: role of genetic resistance. *The Journal of Trauma*, v. 29, n. 11, p. 1480-1487, 1989.
31. DEITCH, Edwin A.; SITTIG, Kevin, MA, Li et al. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *The American Journal of Surgery*, v. 159, p. 79-90, jan. 1990.
32. DEITCH, Edwin A.; WINTERTON, John; BERG, Rodney. Thermal injury promotes bacterial translocation from the gastrointestinal tract in mice with impaired T-cell-mediated immunity. *Archives of Surgery*, v. 121, p. 97-101, 1986.
33. DEITCH, Edwin A.; BERG, Rodney; SPECIAN, Robert D. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Archives of Surgery*, v. 122, p. 185-190, 1987.
Bacterial translocation: is it of clinical significance? *Gastroenterology*, v. 98, n. 1, p. 243-244, 1990.
34. DEITCH, Edwin A. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Archives of Surgery*, v. 124, p. 699-701, 1989.
35. DINEEN, P. The importance of the route of infection in experimental biliary tract obstruction. *Surgical Gynaecology and Obstetrics*, v. 119, p. 1001-1008, 1964.
36. DING, Jim Wen; ANDERSON, Roland; SOLTESZ, Vasile et al. The effect of biliary decompression on bacterial translocation in jaundiced rats. *HPB Surgery*, v. 7, p. 99-110, 1993.
37. DUNCAN, Jose M. Guevara; SOTELO, César A. Tafur. Biliocultivo de colecistectomizados en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins del IPSS. *Diagnostico*, v. 17, n. 5., p. 116-120, 1986.
38. DYE, M.; MACDONALD, A. SMITH G. The bacterial flora of the biliary tract and liver in man. *British Journal of Surgery*, v. 65, p. 285-287, 1978.

39. EDLUNG, Yngve A.; MOLLSTEDT, Bengt O.; OUCHTERLONY, Örjan. Bacteriological investigation of the biliary system and liver in biliary tract disease correlated to clinical data and microstructure of gallbladder and liver. *Acta Chirurgica Scandinavica*, v. 116, p. 461-476, 1958/1959.
40. ELKELES, G; MIRIZZI, P. PL. A study of the bacteriology of the common bile duct in comparison with other extrahepatic segments of the biliary tract. *Annals of Surgery*, v. 116, p. 360-366, 1942.
41. ENGLAND, D. M.; ROSEMBLATT, J. E. Anaerobes in human biliary tracts. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 6, p. 494-498, 1977.
42. ENGSTRÖM, J.; HELLSTRÖM, K.; HÖGMAN, L. et al. Microorganisms of the liver, biliary tract and duodenal aspirates in biliary diseases. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 6, n. 12, p. 177-182, 1971.
43. EPI-INFO. Versão 6. CENTER FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION (CDC).1994. 6464510 bites.
44. FAN, S. T.; LAI, Edward C.; MOK, Francis P. et al. Acute cholangitis secondary to hepatolithiasis. *Archives of Surgery*, v. 126, p. 1027-1031, ago. 1991.
45. FARNELL, M. B.; HEERDEN, J. A. van; BEART, R. W. Elective cholecistectomy. The role of biliary bacteriology and administration of antibiotics. *Archives of Surgery*, v. 116, p. 537-540, 1981.
46. FELIX, Victoriano S.; SALCEDO, Rigoberto M.; GRACIA, Eduardo R. et al. Cultivo de bilis vesicular de pacientes sometidos a colecistectomia. *Revista de Gastroenterologia de México*, v. 52, n. 3, p. 161-169, 1987.
47. FLEMMMA, Robert J.; FLINT, Lewis M.; OSTERHOUT, Suydam et al. Bacteriologic studies of biliary tract infection. *Annals of Surgery*, v. 166, n. 4, p. 563-572, 1967.

48. FLETCHER, Robert H.; FLETCHER, Suzanne W.; WAGNER, Edward H. *Epidemiologia clínica bases científicas da conduta médica*. Porto Alegre : Artes Médicas, 1991.
49. FUKUNAGA, F. H. Gallbladder bacteriology, histology and gallstones. Study of unselected cholecystectomy specimens in Honolulu. *Archives of Surgery*, v. 106, p. 169-171, 1973.
50. GAMBEK, I.; KVAANE, G.; ANESJO, B. Prevalence of gallstone in norwegian population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 22, p. 1089-1094, 1987.
51. GERECHE, Wolfe B.; HENRY, Nancy K.; HOFFMAN, Wendell W. et al. Prospective randomized comparison of mezlocillin therapy alone with combined ampicillin and gentamicin therapy for patients with cholangitis. *Archives of Internal Medicine*, v. 149, p. 1279-1284, jun. 1989.
52. GREGG, James A.; GIROLAMI, Paola De, CARR-LOCKE, David L. Effects of sphincteroplasty and endoscopic sphincterotomy on the bacteriologic characteristics of the common bile duct. *The American Journal of Surgery*, v. 149, p. 668- 671, mai. 1985.
53. GUNN, A. A. Antimicrobial prophylaxis in biliary surgery. *World Journal of Surgery*, v. 6, p. 301-305, 1982.
54. HAMBRAEUS, Anna; LAURELL, Gunnar; NYBACKA, Olof et al. Biliary tract surgery: a bacteriologic and epidemiologic study. *Acta Chirurgica Scandinavica*, v. 155, p. 155-162, 1990.
55. HATFIELD, A. R. W.; LEUNG, T.; AHMET, Z et al. The microbiology of direct sampling at time of endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Journal of Infection*, v. 4, p. 119-125, 1982.
56. HERDOEN, Jonathan A.; BEART, Roberto W. Elective cholecystectomy. The role of biliary bacteriology and administration of antibiotics. *Archives of Surgery*, v. 1113, p. 537-540, maio 1981.

57. IMAI, A.; KURHARA, Y. Endogenous infection en mice with streptozotocin-induced diabetes: a feature of bacterial translocation. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 30, p. 1344-1348, 1984.
58. IRANI, Mehraboon; TRUONG, Luan. Candidiasis of the extrahepatic biliary tract. *Archives of Pathology and Laboratorial Medicine*, v. 110, p. 1087-1090, 1986.
59. JANZON, L.; ASPELIN, P.; ERIKSON, S. et al. Ultrasonographic screening for gallstone disease in middle-aged women. Detection rate, symptoms, and biochemical features. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 20, p. 706-710, 1985.
60. JONES, William G.; MINEI, Joseph P.; BARBER, Annabel E. et al. Bacterial translocation and intestinal atrophy after thermal injury and burn wound sepsis. *Annals of Surgery*, v. 211, n. 4, p. 399-405, 1990.
61. JORGENSEN, T. Prevalence of gallstones in a danish population. *American Journal of Epidemiology*, v. 126, p. 912-921, 1987.
62. KATZ, Schmuel; YANG, Rong; RODEFELD, Mark J. et al. Impaired hepatic bacterial clearance is reversed by surgical relief of obstructin jaundice. *Journal of Pediatric Surgery*, v. 26, n. 4, p. 401-406, apr. 1991.
63. KATZ, Schmuel; JIMENEZ, Marcus A.; LEHMKUHLER, William E. et al. Liver bacterial clearance following hepatic artery ligation and portocaval shunt. *Journal of Surgical Research*, v. 51, p. 267-270, 1991.
64. KEIGHLEY, M. R. B.; DRYSDALE, R. B.; QUORAISHI, A. H. Antibiotics in biliary disease: the relative importance of antibiotic concentrations in the bile and serum. *Gut*, v. 17, p. 495-500, 1976.
65. KEIGHLEY, M. R. B.; LISTER, D. M.; JACOBS, S. I. et al. Hazerds of surgical treatment due ti microorganisms in the bile. *Surgery*, v. 75, n. 4, p. 578-583, abr. 1974.

66. KEIGHLEY, M. R. B.; FLINN, R.; ALEXANDER-WILLIAMS, J. Multivariate analysis of clinical and operative findings with biliary sepsis. *British Journal of Surgery*, v. 63, p. 528-531, 1976.
67. KEIGHLEY, M. R. B.; BADDELEY, R. M.; BURDON, D. W. et al. A controlled trial of parenteral prophylactic gentamicin therapy in biliary surgery. *British Journal of Surgery*, v. 62, p. 275-279, 1975.
68. KEIGHLEY, M.R.B. Micro-organisms in the bile a preventable cause of sepsis after biliary surgery. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, v. 59, p. 328-334, 1977.
69. KELSEY, J. L.; THOMPSON, W. D.; EVANS, A. S. Method in Observational Epidemiology. New York : Oxford University Press. 1986. p. 271-277.
70. KOSOWSKI, K.; KARCZEWSKA, E.; KASPROWICZ, A. et al. Bacteria in bile of patients with bile duct inflammation. *European Journal of Clinical Microbiology*, v. 6, n. 5, p. 575-577, 1987.
71. KRACHT, M.; THOMPSON, J. N.; BERNHOFT, R. A. et al. Cholangitis after endoscopic sphincterotomy in patients with stricture of the biliary duct. *Surgical Gynaecology Obstetrics*, v. 163, p. 324, 1986.
72. KUNE, G. A.; SHUTZ, E. Bacteria in the biliary tract. A study in their frequency and type. *Medical Journal of Austria*, p. 255-258, 1974.
73. LAI, Edward C. S.; PATERSON, Iain, TAM, P. C. et al. Sever acute cholangitis; the role of emergency nasobiliary drainage. *Surgery*, v. 107, n. 3. p. 268- 272, março 1990.
74. LEE, W.J.; CHANG, K. J.; LEE, C. S. et al. Surgery in cholangitis; bacteriology and choice of antibiotic. *Hepato-gastroenterology*, v. 39, p. 347-349, 1992.
75. LEUNG, J. W. C.; VENEZUELA, R. R. Cholangiosepsis: endoscopic drainage and antibiotic therapy. *Endoscopy*, v. 23, p. 220-223, 1991.

76. LEVINE, Jeffrey G.; BOTET, Jose; KURTZ, Robert C. Microbiological analysis of sepsis complicating non-surgical biliary drainage in malignant obstruction. *Gastrointestinal Endoscopy*, v. 36, n. 4, p. 364- 368, 1990.
77. LEWIS, Ronald T.; GOODALL, Graydon; MARIEN, Breen et al. Biliary bacteria, antibiotic use, and wound infection in surgery of the gallbladder and common bile duct. *Archives of Surgery*, v. 122, p. 44-47, jan. 1987.
78. LÖTVEIT, T.; OSNES, M.; AUNE, S. Bacteriologicas studies of common duct bile in patients with gallstone disease and juxtapapillary duodenal diverticula. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 13, p. 93-95, 1978.
79. LÖTVEIT, T. Bacterial infection of the liver and biliary tract. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 85, p. 33-36, 1983.
80. LUPSKI, J. R. Molecular mechanisms for transposition of drug-resistance genes and other movable genetic elements. *Reviews of Infection Diseases*, v. 9, p. 357-368, 1987.
81. LYGIDAKIS, N. J. Incidence of bile infection inpatients with choledocolithiasis. *American Journal of Gastroenterology*, v. 77, p. 12-17, 1982.
82. LYKKERGAARD-NIELSEN, M.; JUSTESEN, T. Anaerobic and aerobic bacteriological studies in biliary tract disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 11, p. 437-446, 1976.
83. MAEJIMA, K.; DEITCH, E. A.; BERG, R. D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract of rats receiving thermal injury. *Infection and Immunity*, v. 43, p. 6-10, 1984.
84. MAIER, R. V.; ULEVITCH, R. J. The response of isolated rabbit hepatic macrophages (H-M0) to lipopolysaccharide (LPS). *Circulatory Shock*, v. 8, p. 165-181, 1981.

85. MAINOUS, Mark R.; TSO, Patrick; BERG, Rodney D. et al. Studies of the route, magnitude, and time course of bacterial translocation in a model of systemic inflammation. *Archives of Surgery*, v. 126, p. 33-37, 1991.
86. MALUENDA, F.; CSENDES, A.; BURDILES, P. et al. Bacteriological study of cholesterol bile in patients with common bile duct stones, with or without acute suppurative cholangitis. *Hepato-gastroenterology*, v. 36, p. 132-135, 1989.
87. MARNE, C.; PALLARES, R.; MARTIN, R. et al. Gangrenous cholecystitis and acute cholangitis associated with anaerobic bacteria in bile. *European Journal of Clinical Microbiology*, v. 5, n. 1, p. 35-39, 1986.
88. MATHISON, J.C.; ULEVITCH, R. J. The clearance, tissue distribution and cellular localization of intravenously injected lipopolysaccharide in rabbits. *Journal of Immunology*, v. 123, p. 2133-2143, 1979.
89. McCUSKEY, Robert S.; McCUSKEY, Patricia; URBASCHEK, Renate et al. Kupffer cell function in host defense. *Reviews of Infectious Diseases*, v. 9, n. 5, p. 616-619, set./out. 1987.
90. McSHERRY, C. K.; GLENN, F. The incidence and cause of death following surgery for non-malignant biliary tract disease. *Annals of Surgery*, v. 191, p. 271, 1980.
91. MELLSTROM, D.; ASZTELY, M.; SVANVIK, J. Gallstones and previous cholecistectomy in 77 to 78-year-old women in a urban population in Sweden. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 23, p. 1241-1244, 1988.
92. MOREHOUSE, Janet L; SPECIAN, Robert D.; STEWART, John J. et al. Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment. *Gastroenterology*, v. 91, p. 673-682, 1986.
93. MORRIS, A. B.; SANDS, M. L.; SHIRAKI, M. et al. Gallbladder and biliary tract candidiasis: nine casos and review. *Reviews of Infectious Diseases*, v. 12, p. 483, 1990.

94. MURRAY, Patrick; CITRON, Diane. General processing of specimens for anaerobe bacteria..
In: BALOWS, A.; HAUSER, W. HERRMANN, K. L. et al. Manual of clinical microbiology.
Washington : American Society for Microbiology, 5^a ed., 1991. p. 488-504.
95. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARTS. Tentative standarts
M2-T4. Performance standarts for antimicrobial disk susceptibility test, 4^a ed. Villanova :
National Committee for Clinical Laboratory Standarts, 1988.
96. ONG, G. B. Astudy of recurrent pyogenic cholangitis. *Archives of Surgery*, v. 84, p. 63, 1962.
97. PAIN, J. A. Reticulo-endothelial function on obstructive jaundice. *British Journal of Surgery*,
v. 74, p. 1091-1094, dez. 1987.
98. PALACIOS, Jose Manuel; CORREA, Raul; JIMENEZ, Oscar et al. Estudio bacteriologico de
la bilis del coledoco. *Boletin del Hospital San Juan de Dios*, v. 38, n. 1, p. 19-25, 1991.
99. PAPA, M.; HALPERIN, Z.; RUBINSTEIN, E. et al. The effect of ischemia of the dog's colon
on transmural migration of bacteria and endotoxin. *Journal of Surgical Research*, v. 35,
p. 264-269, 1983.
100. PATEL, Samir; BORGES, Manfred; BATT, Murray et al. *Trichosporon* cholangitis
associated with hyperbilirubinemia and findings suggesting primary sclerosing cholangitis
on endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *The American Journal of
Gastroenterology*, v. 85, n. 1, p. 84-87, 1990.
101. PERROTA, Umberto. Colangite aguda supurativa. *Boletim da Academia Nacional de
Medicina*, v. 150, n. 1/6, p. 69-74, 1990.
102. PITT, H. A.; POSTIER, R. G.; CAMERON, J. L. Biliary bacteria. *Archives of Surgery*, v.
117, p. 445-449, 1982.
103. _____ Consequences of preoperative cholangitis and its treatment on the
outcome of operation for choledocholithiasis. *Surgery*, v. 94, p. 447-452, 1983.

104. PLOS, K.; HULL, R. A.; LEVIN, B. R. et al. Distribution of the P-associated-pilus (pap) region among *Escherichia coli* from natural sources: evidence for horizontal gene transfer. *Infection and Immunity*, v. 57, p. 1604-1611, 1989.
105. PRÉVÔT, L.; BRESLER, L.; MULLER, C. et al. Aspects bactériologiques des angiocholites aiguës lithiasiques. *La Presse Medicale*, v. 15, n. 20, p. 689-691, abr. 1991.
106. RAPER, Steven E.; BARKER, Mary E.; JONES, Albert L. et al. Anatomic correlates of bacterial cholangiovenous reflux. *Surgery*, v. 105, n. 3, p. 352-359, março 1989.
107. REDAN, Jay A.; RUSH, Benjamin F.; MCCULLOUGH, Jock N. et al. Organ distribution of radiolabeled enteric *Escherichia coli* during and after hemorrhagic shock. *Annals of Surgery*, v. 211, n. 6, p. 663-668, 1990.
108. RHOMBERG, H. P.; JUDMAR, G.; DINAN, B. J. How common are gallstones? *British Medical Journal*, v. 289, p. 1002, 1984.
109. RICHA, Rafael V.R.; MARTIZ, Alfredo. Bacteriologia de la bilis en 50 pacientes operados de vesicula y vias biliares. Aplicacion clinica. *Revista Medica de la Caja de Seguro Social*, v. 17, n. 1, p. 11-14, janeiro 1985.
110. ROBSON, M. C.; BOGART, J. N.; HEGGERS, J. P. An endogenous source for wound infection based on quantitative bacteriology of the biliary tract. *Surgery*, v. 68, p. 471, 1970.
111. RODRIGUEZ, Oscar P.; TSAO, Guadalupe G.; SIFUENTES, Jose. Utilidad del estudio histológico e microbiológico de la biopsia hepatica en el diagnóstico de la fiebre de origen desconocido. *Revista de Gastroenterologia de México*, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1990.
112. ROME GROUPE FOR THE EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION OF CHOLELITHIASIS (GREPCO). Prevalence of gallstone disease in an Italian adult female population. *American Journal of Epidemiology*, v. 119, p. 796-804, 1984.

113. ROSAI, Juan. Gallbladder and extrahepatic bile ducts. In: _____. Ackerman's surgical pathology. St. Louis : The C. V. Mosby Company, 7^a ed., 1989. p.737-756.
114. ROSE, H. D.; VARKEY, B. Deep mycotic infection in the hospitalized adult: a study of 123 patients. *Medicine*, v. 54, p. 499-509, 1975.
115. RUBINSTEIN, Juan P.; COHEN, Héctor; IADE, Beatriz et al. Infeccion de la via biliar. *Cirurgia del Uruguay*, v. 56, n. 4/5, p, 213-218, jul./ago. 1986.
116. RUITER, D. J.; MEULEN, J.; BROUWER, A. et al. Uptake by liver cells of endotoxin following its intravenous injection. *Laboratory Investigation*, v. 45, p. 38-45, 1981.
117. SAND, J.; AIRO, I.; HILTUNEN, K. M. Changes in biliary bacteria after endoscopic cholangiography and sphincterotomy. *American Surgery*, v. 58, n. 5, p. 324-328, 1992.
118. SAUTER, G.; GRABEIN, B.; HUBER, G. A. et al. Antibiotic prophylaxis of infectious complications with endoscopic retrograde cholangiopancreatography a randomized controlled study. *Endoscopy*, v. 22, p. 164-167, 1990.
119. SBOROV, Victor M.; MORSE, W. Clinton; GIGES, Burton et al. Bacteriology of the human liver. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 31, p. 986-992, 1952.
120. SCHATTEN, William E.; DESPREZ, John D.; HOLDEN, William D. A bacteriologic study of portal-vein blood in man. *Archives of Surgery*, v. 71, p. 404-409, 1955.
121. SCHUMACHER, H. R.; GINNS, D. A.; WARREN, W. J. Fungus infection complicating leukemia. *American Journal of Medical Sciences*, v. 247, p. 313-323, 1964.
122. SCOTT, Alister J. Bacteria and disease of the biliary tract. *Gut*, v. 12, p. 487-492, 1971.
123. SCOTT-CONNER, Carol E. H.; BERSTEIN, Jack M.; SCHER, Kenneth S. et al. The effect of biliary obstruction on a gram-negative bacteremic challenge: a preliminary report. *Surgery*, v. 99, n. 6, p. 679-683, jun. 1986.

124. SCOTT-CONNER, Carol E. H.; GROGAN, James B.; SCHER, Kenneth S. et al. Impaired clearance of *Escherichia coli* bacteremia in early biliary obstruction. *The American Journal of Surgery*, v. 157, p. 210-214, 1989.
125. SELANDER, R. K.; CAUGANT, D. A.; OCHMAN, H. et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Applied Environmental Microbiology*, v. 51, p. 873-884, 1986.
126. SILENT, William; WERTHEIMER, Michael; KIRSHENBAUM, Gerald. Bacterial contamination of the biliary tree after choledochostomy. *The American Journal of Surgery*, v. 135, p. 325-327, mar. 1978.
127. SINANAN, Mika N. Acute cholangitis. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 6, n. 3. p. 571-599, 1992.
128. SMITH, C. L.; WARBURTON, P. E.; GAAL, A. et al. Analysis of genome organization and rearrangements by pulsed field gradient gel electrophoresis. In: SETLOW, J. K. Genetic engineering principles and methods. New York : Plenum Press, 1986. p. 45-70.
129. STORMON, J. M.; MACKIE, J. E.; KASS, E. H. et al. Bacteriologic culture of diseased human liver. *Annals of Internal Medicine*, v. 51, p 17, 1959.
130. STRACHAN, C. J. L.; BLACK, J.; POWIS, S. J. A. Use of cephazol against wound sepsis after cholecystectomy. *British Medical Journal*, v. 1, p. 1254, 1977.
131. SUNG, J. Y.; LEUNG, J. W. C.; OLSON, M. E. et al. Demonstration of transient bacterobilia by foreign body implantation in feline biliary tract. *Digestive Diseases and Sciences*, v.36, n. 7, p. 943-948, jul. 1991.
132. SUNG, Joseph Y.; SHAFFER, Eldon A.; OLSON, Merle E. et al. Bacterial invasion of the biliary system by way of the portal-venous system. *Hepatology*, v. 14, n. 2, p. 313-317, 1991.

133. SUZUKI, Yasutoshi; KOBAYASHI, Akio; OHTO, Masao et al. Bacteriological study of transhepatically aspirated bile. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 29, n. 2, p. 109-115, 1984.
134. VITEK INFORMATION MANAGEMENT SYSTEM. VITEK SYSTEMS, INC. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Serviço de Microbiologia, Porto Alegre, 1990. IBM PC.
135. TABATA, M.; NAKAYAMA, F. Bacteria and gallstones. Etiological significance. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 26, p. 218-224, 1981.
136. TORRES, O. Gonzalo; GRÁJEDA, Oscar,; MORGENSTERN, Ricardo et al. Bacterias, numero de colonias y factores de alt riesgo en bilis. Experiencia en 49 pacientes. *Gaceta Medica Boliviana*, v. 17, n. 1, p. 1-4, 1993.
137. TREEM, William R.; MALET, Peter F.; GOURLEY, Gleen R. et al. Bile and stone analysis in two infants with brown pigment gallstone and infected bile. *Gastroenterology*, v. 96, p. 519-523, 1989.
138. TRUEDSON, H.; ELMROS, T.; HOLM, S. The incidence of bacteria in gallbladder bile at acute and elective cholecistectomy. *Acta Chirurgica Scandinavica*, v. 149, p. 307-313, 1983.
139. VETENCOURT, Rafael; RIERA, Eduardo; SUAREZ, Alfredo et al. Cultivo de la bilis obtenida por puncion directa del arbol biliar: reporte de 76 casos. *GEN Revista de la Sociedad Venezolana de Gastroenterologia*, v. 37, n. 3, p. 241-249, jul./set. 1983.
140. WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A.; REYNOLDS, C. M. et al. Role of anaerobic flora in the translocation of aerobic and facultatively anaerobic intestinal bacteria. *Infection and Immunity*, v. 55, p. 2689-2694, 1987.
141. WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A.; JECHOREK, R. P. et al. Role of intestinal anaerobic bacterian in colonization resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 7, p. 107-113, 1988.

142. WELLS, C. L.; JECHOREK, R. P.; MADDAUS, M. A. et al. Effects of clindamicin and metronidazole on intestinal colonization and translocation of enterococci in mice. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 32, p. 1769-1775, 1988.
143. WELLS, Carl L; JEROCKEK, Robert P.; GILLINGHAM, Kristen J. Relative contributions of host and microbial factors in bacterial translocation. *Archives of Surgery*, v. 126, p. 247-252, 1991.
144. WELLS, Carol L.; JECHOREK, Robert P.; ERLANDSEN, Stanley L. Evidence for the translocation of *Enterococcus faecalis* across the mouse intestinal tract. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 162, p. 82-90, 1990.
145. WELLS, G. R.; TAYLOR, E. W.; LINDSAY G. et al. Relationship between bile colonization, high-risk factors and postoperative sepsis in patients undergoing biliary tract operations while receiving a prophylactic antibiotic. *British Journal of Surgery*, v. 76, p. 374-377, 1989.
146. YIO, Xian Yang; JIN, Beiwen; YIN, Feng Zhi et al. Bile secretory immunoglobulin A in biliary infection and cholelithiasis. *Gastroenterology*, v. 102, p. 1000-1008, 1992.
147. YOSHII, Yukiko; NISHINO, Hiroji; SATAKE, Katsusuke et al. Isolation of *Vibrio fluvialis*, an unusual pathogen in acute suppurative cholangitis. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 82, n. 9, p. 903-905, 1987.