

SÉRGIO LUIZ ROCHA

Colangite Aguda por *Escherichia coli*.
Estudo Experimental em Ratos com
Obstrução Biliar.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre.

CURITIBA
1991

SÉRGIO LUIZ ROCHA

Colangite Aguda por *Escherichia coli*.
Estudo Experimental em Ratos com
Obstrução Biliar.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre.

CURITIBA
1991

Aos meus pais,
a quem tudo devo.

A Solange e
Rafaela, com amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Sérgio Brenner, pela dedicação na orientação deste trabalho;

ao Professor Clóvis Eurico Rohrig, meu coorientador pela colaboração e preciosas sugestões;

ao Professor José Ederaldo Queiroz Telles, meu coorientador, pelo estímulo, sugestões, exame das lâminas e fotomicrografias;

à Professora Zélia Milléo Pavão e a Srta. Salete do Carmo Pelanda, pelos trabalhos estatísticos;

à bioquímica Helena Aguilar Peres Homem de Mello de Souza, responsável pelo laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná;

ao Professor Osvaldo Malafaia, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, níveis Mestrado e Doutorado, pela confiança;

ao Professor Iwan Augusto Collaço, pelas sugestões
e amizade;

à Professora Cleuza Stadler Bonfim pela revisão;

ao jovem Mauricio Trindade Malafaia, pelo trabalho
de informática;

à jovem Simone Rocha Carneiro, pelas ilustrações
deste trabalho;

aos Médicos Milton de Miranda Santoro, Francisco
Otávio Andrade Barros Silva e doutorando Alfredo Benjamim
Duarte da Silva, pela colaboração;

E a todos que colaboraram direta ou indiretamente.

LISTA DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
I - Tempo de vida após a injeção de soro fisiológico (subgrupos Ia e IIa) ou suspensão de <i>Escherichia coli</i> (subgrupos Ib e IIb) no ducto biliar comum.....	25
II - Diferença de mortalidade no intervalo de 168 horas após a injeção de bactérias.....	27
III - Alterações inflamatórias do fígado: subgrupo Ia.	42
IV - Alterações inflamatórias do fígado: subgrupo Ib.	46
V - Tempo de vida em correlação com a congestão ou dilatação vascular: subgrupo Ib.....	47
VI - Tempo de vida em correlação ao edema portal: subgrupo Ib.....	48
VII - Tempo de vida em correlação ao infiltrado inflamatório polimorfonuclear: subgrupo Ib.....	49
VIII - Tempo de vida em correlação á hiperplasia das células de Kupffer.....	50
IX - Alterações inflamatórias do fígado: subgrupo IIa.....	51
X - Alterações inflamatórias do fígado: subgrupo IIb.....	52
XI - Tempo de via em correlação á congestão ou dilatação vascular: subgrupo IIb.....	53
XII - Tempo de vida em correlação ao edema portal: subgrupo IIb.....	54

XIII	- Tempo de vida em correlação ao infiltrado inflamatório polimorfonuclear: subgrupo IIb.....	55
XIV	- Tempo de vida em correlação á hiperplasia das células de Kupffer: subgrupo IIb.....	56
XV	- Alterações de degeneração, necrose celular e infecciosas: subgrupo Ia.....	57
XVI	- Alterações de degeneração, necrose celular e infecciosas: subgrupo IIa.....	58
XVII	- Alterações de degeneração, necrose celular e infecciosas: subgrupo Ib.....	60
XVIII	- Tempo de vida em correlação á necrose coagulativa: subgrupo Ib.....	61
XIX	- Tempo de vida em correlação com exudato neutrofilico sinusoidal: subgrupo Ib.....	61
XX	- Tempo de vida em correlação á necrose supurativa- microabscesso: subgrupo Ib.....	62
XXI	- Alterações de degeneração, necrose celular e infecciosas: subgrupo IIb.....	63
XXII	- Tempo de vida em correlação á necrose supurativa- microabscesso: subgrupo IIb.....	64
XXIII	- Alterações do ducto biliar comum: subgrupo Ia....	75
XXIV	- Alterações do ducto biliar comum: subgrupo Ib....	76
XXV	- Alterações do ducto biliar comum: subgrupo IIa...	77
XXVI	- Alterações do ducto biliar comum: subgrupo IIb...	78

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1 - Anatomia da região operatória.....	13
2 - Punção do ducto biliar comum.....	14
3 - Fixação do cateter na extremidade proximal do ducto biliar comum.....	16
4 - Fechamento da extremidade distal do cateter. Aspecto final da cateterização.....	17
5 - Cateter seccionado e saída da bile, na segunda operação.....	18
6 - Conjunto preparado para injeção através do cateter	19
7 - Aderências na extremidade proximal do ducto biliar comum após 7 dias de obstrução.....	29
8 - Ducto biliar comum dilatado com área livre de aderências.....	30
9 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 28 dias, 72 horas após a injeção de bactérias.....	31
10 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução prévia de 7 dias, 72 horas após a injeção de bactérias..	32
11 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias e 36 horas após a injeção de bactérias, contendo bile hemorrágica.....	33
12 - Bile purulenta.....	34
13 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias . Aberto 168 horas após injeção de soro fisiológico.....	35

14 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias. Aberto 168 horas após injeção de soro fisiológico.....	36
15 - Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias. Aberto 36 horas após a injeção de bactérias.....	37
16 - Superfície hepática com granulações amareladas..	38
17 - Fígado congesto e com bordos rombos.....	39
18 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 30 horas após a injeção de bactérias.....	43
19 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 168 horas após a injeção de soro fisiológico.....	44
20 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 30 horas após injeção de bactérias.....	65
21 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 36 horas após injeção de bactérias.....	66
22 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 72 horas após injeção de bactérias.....	67
23 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 72 horas após injeção de bactérias.....	68

24 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 90 horas após injeção de bactérias.....	69
25 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 12 horas após injeção de bactérias.....	70
26 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 30 horas após injeção de bactérias.....	71
27 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 72 horas após injeção de bactérias.....	72
28 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 168 horas após injeção de bactérias.....	73
29 - Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 30 horas após injeção de bactérias.....	74
30 - Alterações teciduais do ducto biliar comum por obstrução biliar de 7 dias, 168 horas após injeção de soro fisiológico.....	79
31 - Alterações teciduais do ducto biliar comum por obstrução de 28 dias, 30 horas após injeção de bactérias.....	80

SUMARIO

	Pág.
1. Introdução.....	2
2. Revisão da Literatura.....	5
3. Material e Métodos.....	10
3.1. Da suspensão de <i>Escherichia coli</i>	11
3.2. Da Cultura da bile.....	11
3.3. Dos procedimentos Cirúrgicos.....	12
3.3.1. Primeira Operação.....	12
3.3.2. Segunda Operação.....	15
3.4. Evolução e Sacrificio.....	20
3.5. Avaliação Histológica.....	21
3.5.1 Fígado.....	21
3.5.2 Ducto Biliar Comum.....	22
3.6. Método estatístico.....	23
4. Resultados.....	24
4.1. Evolução clínica e controle bacteriológico	24
4.2. Macroscopia.....	28
4.3. Microscopia.....	40
4.3.1 Fígado.....	40
4.3.2 Ducto Biliar Comum.....	73
4.4. Estudo estatístico.....	74
5. Discussão.....	82
6. Conclusões.....	91
7. Summary.....	93

8. Referências Bibliográficas..... 95

RESUMO

Foi estudado um modelo experimental de produção de colangite aguda na vigência de obstrução biliar. Utilizou-se 32 ratos de Wistar adultos divididos em grupo I (7 dias de obstrução biliar), e grupo II (28 dias de obstrução biliar). Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos. Todos os animais sofreram duas intervenções. Na primeira operação foi realizada ligadura e cateterização da extremidade proximal do ducto biliar com tubo de polietileno PE-10, que foi ocluído e deixado sob a pele. Numa segunda operação, da qual foram excluídos os animais com complicações no período de obstrução biliar, o cateter foi recuperado do tecido celular subcutâneo nos animais do grupo I após 7 dias e no grupo II após 28 dias. Procedeu-se a colheita da bile para cultura e injetou-se através do cateter solução estéril de cloreto de sódio 0,9% nos subgrupos Ia e IIa (controles) e suspensão de *Escherichia coli* 10^5 UFC/ml nos subgrupos Ib e IIb. Após um período de observação de 168 horas decorrentes desta segunda operação, os animais que não morreram foram sacrificados. No óbito ou sacrifício, foi colhida bile para cultura e retirados o fígado e o ducto biliar comum para exame histopatológico. Não houve mortalidade nos subgrupos Ia e IIa e todas as culturas da bile foram negativas. Nos subgrupos Ib e IIb, as culturas da bile foram negativas por ocasião da segunda operação. A mortalidade após a injeção de bactérias intraductal foi de 90% para o subgrupo Ib, com 7

dias de obstrução biliar prévia, e 75% para o subgrupo IIb, com 28 dias de obstrução biliar. Esta diferença não foi estatisticamente significativa. Todos os animais após a injeção de bactérias, exceto dois nos quais a bile era hemorrágica, apresentaram a bile purulenta. Em todos a cultura da bile desenvolveu *Escherichia coli*. Os achados microscópicos mostraram uma correlação negativa moderada entre o tempo de vida após a injeção de bactérias e as variáveis inflamatórias nos subgrupos Ib e IIb. O mesmo foi encontrado para a variável de microabscesso. As intensidades de alterações microscópicas correlacionadas, foram obtidas de dados observacionais. Os resultados sugerem que o modelo utilizado alcançou o objetivo de produzir colangite aguda, as alterações microscópicas mais intensas do fígado, tipo microabscesso, ocorreram nos animais que viveram por menor tempo e que o período de obstrução biliar prévia, quer 7 ou 28 dias, não interferiu na mortalidade.

1 - INTRODUÇÃO

Os doentes com colangite aguda apresentam altas taxas de mortalidade que variam de 13 a 88% 5, 18, 23, 23, 44, 45, 52, 65, 70.

A colangite aguda é classicamente caracterizada pelos seguintes sinais e sintomas: icterícia, dor e febre com calafrios. A dor ou aumento da sensibilidade dolorosa predomina no quadrante superior direito do abdome. Este conjunto foi consagrado como triade de Charcot, que assim a descreveu pela primeira vez em 1877 ¹¹.

ROGERS ⁵³, em 1889, relatou 20 casos de autópsias nas quais encontrou colangite aguda supurativa. Em 1903, operou uma paciente com este diagnóstico e realizou drenagem biliar externa com tubo de vidro. A paciente morreu na manhã seguinte da operação.

REYNOLDS & DARGAN ⁵², em 1959, num relato de 5 casos, associaram mais dois sinais clínicos à triade de CHARCOT: choque e depressão do sistema nervoso central. Enfatizaram a gravidade do quadro, ao qual denominaram de colangite aguda obstrutiva, ressaltando a necessidade de tratamento cirúrgico imediato.

GLENN & MOODY ²¹, em 1961, descreveram 8 casos semelhantes, denominando a doença de colangite aguda obstrutiva supurativa. Nesta época, na literatura americana, haviam sido descritos 52 casos.

HAUPERT ²³, em 1967, estudou 15 doentes de colangite aguda supurativa e concluiu que se deve fazer um esforço na prevenção da hipotensão e da insuficiência renal aguda.

DOW & LINDENAUER ¹⁵, em 1969, analisando 46 casos da literatura, encontraram uma mortalidade de 13% nos pacientes que se apresentaram com a triade de Charcot e pus na árvore biliar. Nos pacientes com estes achados, associados com hipotensão ou septicemia, a mortalidade se elevou para 61%.

Admite-se, atualmente, a existencia de dois tipos de colangite aguda em seres humanos: a não supurativa e a supurativa ^{5,44,70}. A não supurativa é aquela em que existe obstrução parcial da via biliar e há bactérias detectadas na bile por cultura. Na supurativa, a obstrução pode ser total ou parcial e a bile é purulenta. A causa mais comum de obstrução parcial ou fatal da via biliar comum, é a coledocolitíase, muitas vezes em pacientes com intervenção prévia sobre as vias biliares. As neoplasias do pâncreas e da árvore biliar são causas pouco freqüentes ^{5,18,20,21,23,43,50,57,65,70}. Independente da causa, nem sempre existe correspondência entre a gravidade avaliada por dados clínicos e laboratoriais e os achados operatórios. Assim, doentes com bile purulenta podem ter poucas repercussões clínicas e o contrário pode acontecer quando não há supuração ^{20,65,70}.

Encontram-se várias espécies de bactérias na bile na vigência da obstrução biliar e colangite aguda. A bactéria mais freqüente é a *Escherichia coli* 17,23,31,37,44,49,50,57,60. São postuladas três vias de contaminação da bile : linfática, hematogênica e ascendente através dos ductos biliares. As duas últimas hipóteses são as mais aceitas 15,57.

Ao estudo microscópico, as repercussões teciduais hepáticas e nos ductos biliares são mais graves na forma supurativa do que na não supurativa. As alterações histológicas consistem de colangite aguda com leucócitos polimorfonucleares nos espaços porta e na luz dos ductos biliares. Com a progressão do quadro infeccioso, surgem exudatos neutrofilicos a nível dos sinusóides. As formas mais graves se caracterizam pela presença de microabscessos 59 e abscessos no parênquima hepático 7,35.

A endotoxemia conseqüente à obstrução da via biliar, pode promover lesão renal 1,79, coagulação intravascular disseminada 27, sangramento gastro intestinal alto 16 e diminuição da atividade do sistema reticulo endotelial ^{10,47} 23,60. A pressão da via biliar está aumentada, o que determinaria uma bacteremia mais acentuada 14,36.

Diante do interesse deste assunto, foi idealizado este estudo experimental para produção de colangite aguda em ratos, com diferentes tempos de obstrução da via biliar. Avaliou-se as repercussões teciduais no fígado e no ducto biliar comum em relação a mortalidade.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

Existem poucas descrições na literatura, de modelos experimentais de produção de colangite aguda ^{12.29} 34.54.62.

Em ratos, são frequentes os relatos das repercussões teciduais do fígado decorrentes da obstrução biliar ^{9.10.12.13.38.39.52.67}, contudo descrições de modelos experimentais de produção de colangite aguda são escassos ^{12.54.51.62}.

CAMERON ⁹, em 1932, publicou extensa revisão de obstrução biliar experimental em diversos animais. Fez o primeiro relato das alterações histológicas do fígado de ratos submetidos à ligadura e secção do ducto biliar comum (DBC), nas suas porções alta, média e baixa. Observou as alterações teciduais de maneira cronológica, de 1 hora até 48 semanas. De 2 a 11 dias de obstrução, observou áreas de necrose focal dos hepatócitos, acompanhadas de infiltrado leucocitário e histiocitário. Houve neoformação de ductos biliares, inicialmente nos espaços porta e, a partir do sétimo dia, estendendo-se para o lóbulo hepático. Tais alterações foram acompanhadas de proliferação de fibroblastos, hiperplasia e hipertrofia das células de Kupffer, e evidências de regeneração hepatocelular pelo

aumento do número de mitoses. No período de 3 a 9 semanas de obstrução, extensas áreas do lóbulo hepático eram constituídas por ductos neoformados e atrofia concomitante de hepatócitos, persistindo acentuada hiperplasia das células de Kupffer. Havia dilatação dos canais biliares e continuavam presentes as áreas de necrose, muitas delas representadas por tecido de reparação. Não mais se observavam áreas de infarto, porém podiam ser vistos múltiplos pequenos abscessos. Relatou ainda a recanalização do DBC em 5 animais examinados após 19 ou mais dias de obstrução. Relatos posteriores ^{10 13 54 55}, de alterações histológicas do fígado à microscopia óptica, em ratos com obstrução biliar, não trouxeram diferenças das descritas por CAMERON ⁹

TRAMS E SYMEONIDIS ⁶⁷ em 1957, demonstraram, em dois modelos experimentais de icterícia obstrutiva em ratos, a recanalização do DBC após sua ligadura. Os animais que sofreram ligadura e excisão de 8 a 10mm do ducto, não recanalizaram. Este modelo foi utilizado em outros estudos, variando apenas na extensão da excisão do ducto ^{13, 22, 36, 54, 58, 62, 63, 64}.

CAMERON & HASAN ¹⁰, em 1958, estudando as alterações morfológicas e funcionais do fígado, em ratos com obstrução biliar, fizeram um breve relato das alterações microscópicas da parede do DBC. Observaram que, após 2 horas, já ocorriam mitoses no epitélio ductal. Com a progressão do tempo de obstrução, as dobras do epitélio se

retificavam e com 4 e 7 dias havia um aumento de polimorfonucleares e macrófagos nas paredes do ducto, nesta fase já sacular. De 2 a 3 semanas, o DBC, com dimensões de até 6 X 4cm, apresentava bile amarelo-esverdeada ou hemorrágica.

RONAI & MAGAREY ⁵⁴, em 1960, foram os pioneiros na indução de colangite aguda em ratos com obstrução prévia do DBC, através da injeção de *Bacterium coli* na veia porta ou na veia cava inferior. Nos ratos sem obstrução da via biliar, não houve alterações histológicas após injeção de bactérias. Os animais que receberam injeção intravenosa de bactérias, após permanecerem 7 dias com obstrução da via biliar, desenvolveram colangite aguda e todos morreram em 2 dias. Encontraram em alguns ratos, apenas com icterícia obstrutiva, áreas de abscessos hepáticos.

CHOU & GIBSON ¹², em 1968, injetaram *Escherichia coli* na veia cecal de ratos, com e sem obstrução do DBC, e avaliaram os achados microscópicos. Os ratos sem obstrução não apresentavam sinais de colangite aguda, enquanto que nos ratos com icterícia, as alterações foram evidentes.

LEE ³², em 1972, observou que a ligadura e secção do DBC deve ser feita logo abaixo da união dos ductos hepáticos. Este procedimento promove obstrução permanente da via biliar, sem escape de bile para o intestino.

PETERSON & FUGIMOTO ⁴⁸, em 1973, em estudos da absorção de água e outros componentes da árvore biliar de ratos, utilizaram um tubo de polietileno PE-10 para cateterizar a extremidade proximal do DBC, após a sua ligadura. Enfatizaram a necessidade deste procedimento ser realizado no 1/3 proximal do DBC, para evitar a contaminação da bile por suco pancreático. Esta cateterização também foi utilizada por BOCKMAN ⁴, NEMCHAUSKY ET ALLI ⁴¹, NISHIURA ET ALLI ⁴² e UTILI ET ALLI ⁶⁵ para injeções intrabiliares. RAPER ET ALLI ⁵¹ e TOYOTA ET ALLI ⁶⁶ utilizaram o cateter PE-50.

HOLMBERG et alli ²⁶, em 1985, demonstraram que mesmo com a excisão de 6 mm do DBC, pode ocorrer recanalização. Propuseram novo modelo de icterícia obstrutiva em ratos, com a interposição do estômago e duodeno entre as extremidades do DBC seccionado.

TANAKA et alli ⁶², em 1985, foram os primeiros a descreverem um modelo experimental de sepsis em ratos com obstrução biliar crônica, pela injeção de bactérias no DBC. Utilizaram ligadura e excisão de 5-8mm do DBC e reoperaram os animais após 21 dias, para injetarem diferentes concentrações de *Escherichia coli* no ducto dilatado ou na cavidade peritonial. Avaliaram a mortalidade e o quadro clínico, demonstrando a septicemia fulminante no grupo em que a injeção foi intraductal.

MEDEIROS et alli ³⁵, em 1988, fizeram uma descrição das alterações microscópicas do fígado, em ratos jovens, adultos e velhos, após obstrução biliar de até 40 dias. Encontraram fibrose septal com regeneração nodular apenas nos animais jovens.

RAPER ET ALLI ⁵¹, em 1989, cateterizaram a extremidade proximal do DBC após a sua ligadura, introduzindo um tubo de polietileno PE-50. A extremidade distal do tubo foi fechada e colocada no tecido celular subcutâneo do rato. Após 2 dias de obstrução, recuperaram o cateter do tecido celular subcutâneo, abriram-no e fizeram injeção de *Escherichia coli* intraductal, com objetivo de estudar o refluxo colangiovenoso das bactérias.

3- MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos, machos, com peso de 265 a 400g, obtidos no ao biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná. Antes e após os procedimentos cirúrgicos, todos os animais foram deixados com livre acesso a água e ração, e submetidos a ciclo artificial dia e noite.

Todos os animais foram submetidos à laparotomia, ligadura distal do ducto biliar comum (DBC) e cateterização proximal com tubo de polietileno (PE-10). Foram divididos em 2 grupos conforme o período de obstrução do DBC: grupo I, com 7 dias de obstrução e grupo II, com 28 dias. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos, conforme a solução injetada através do cateter. No subgrupo Ia(n=5), 5³ animais receberam injeção de solução estéril de cloreto de sódio 0,9%; no subgrupo Ib(n=11), 10 animais receberam injeção de suspensão de *Escherichia coli* 10⁸ UFC/ml. No subgrupo IIa(n=3), 2 animais receberam injeção de solução estéril de cloreto de sódio 0,9% e no subgrupo IIb(n=13), 8 animais receberam injeção de suspensão de *Escherichia coli* 10⁸ UFC/ml.

3.1- DA SUSPENSÃO DE E.COLI

A suspensão de *Escherichia coli* foi fornecida pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Foi utilizada a *Escherichia coli* ATCC (*American Type Culture Collection*) 25922 cultivada em *Peptone-Yeast / Broth* por 24 horas a 37°C, com concentração final de 10⁵ UFC/ml

3.2- DA CULTURA DA BILE

As amostras de bile foram cultivadas em ágar-sangue e incubadas por 24-48 horas a 37°C. Foi pesquisada a presença de *Escherichia coli* através de identificação bioquímica das colônias, segundo o Manual de Microbiologia Clínica da Sociedade Americana de Microbiologia ³³.

3.3- DOS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

3.3.1- PRIMEIRA OPERAÇÃO

Em condições assépticas e sob anestesia inalatória com éter sulfúrico, foi realizada laparotomia mediana de 3 cm de extensão. O ducto biliar comum foi identificado no ligamento hepato-duodenal (figura 1) e isolado na sua porção mediana numa extensão de 4mm. Tomou-se sempre o cuidado de observar a localização do ducto pancreático mais alto para evitar sua lesão. A porção distal do DBC isolado foi ligada com fio algodão 4-0. O DBC foi puncionado logo acima desta ligadura com agulha 26 G 1/2 (figura 2) para introdução do cateter de polietileno PE-10 com diâmetro interno de 0,28mm (0,011") e diâmetro externo de 0,61mm (0,024"), previamente esterilizado com óxido de etileno. O cateter foi introduzido na via biliar até encontrar resistência, sendo então tracionado por 3mm e fixado com dupla ligadura de algodão 4-0 próximo ao local de sua

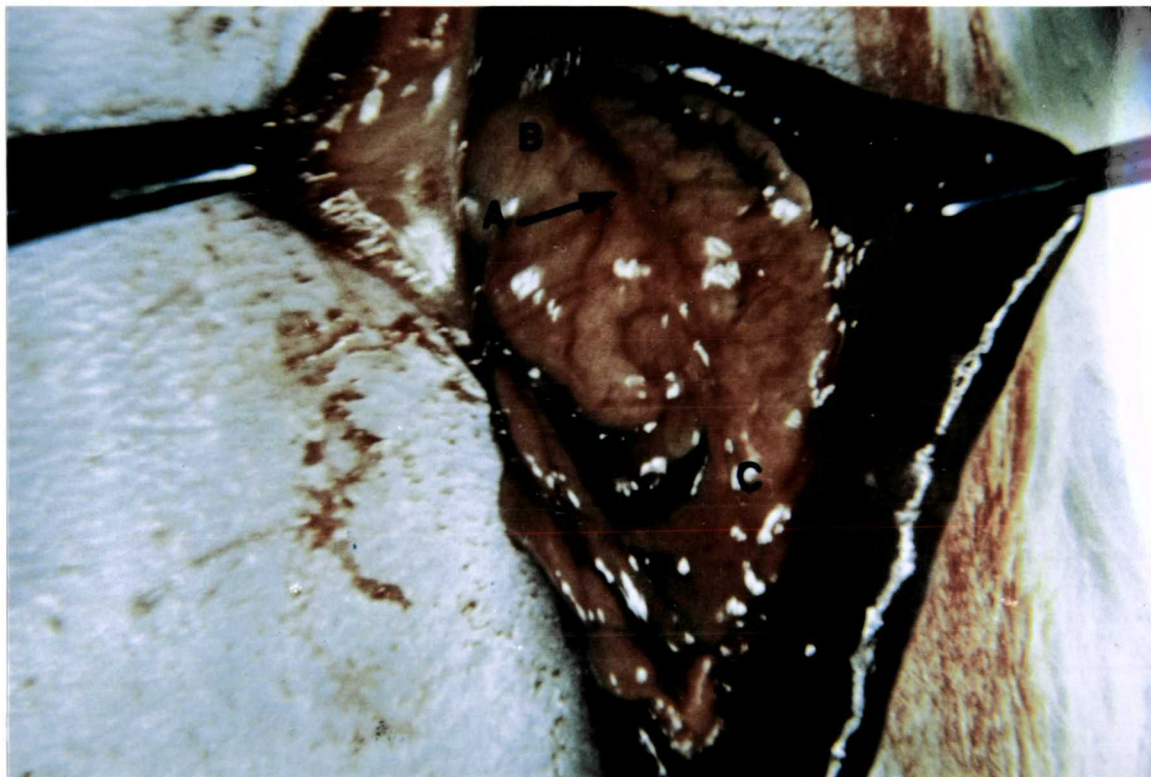


Figura 1. Anatomia da região operat6ria. A) Ducto biliar comum. B) Ligamento hepato-duodenal. C) Pâncreas. D) Duodeno



Figura 2. Punção do ducto biliar comum. A seta mostra o local da punção do ducto isolado.

introdução (figura 3). Sempre verificou-se que estas ligaduras estivessem abaixo da confluência dos ductos hepáticos, sendo então o DBC seccionado entre as ligaduras proximal e distal. O comprimento total do cateter foi de 9cm. A porção livre do cateter, pela qual houve sempre refluxo de bile, foi duplamente ligada com fio de algodão 4-0 (figura 4) e colocada no tecido celular subcutâneo, num túnel criado do lado esquerdo da incisão. O fechamento da parede abdominal foi realizado em dois planos de sutura.

3.3.2- SEGUNDA OPERAÇÃO.

Os animais do grupo I foram reoperados com 7 dias e do grupo II com 28 dias após obstrução do DBC.

Em condições assépticas e sob anestesia com éter, através de uma incisão de 0,5cm na pele, a extremidade distal do cateter foi identificada no tecido celular subcutâneo . Foi seccionado o cateter e colhidas 10 gotas (0,1ml) de bile (figura 5) em recipiente estéril e enviadas para cultura. O cateter foi ocluído por uma pinça. A seguir, 0,1ml de solução estéril de cloreto de sódio 0,9% ou de suspensão de *Escherichia coli* 10^8 UFC/ml foi colocada dentro de um tubete de carpule previamente esterelizado em óxido de etileno. Esse tubete foi colocado



Figura 3. Fixação do cateter na extremidade proximal do ducto biliar comum. A) Cateter. B) Dupla ligadura da porção proximal do ducto sobre o cateter. C) Ligadura da extremidade distal do ducto. D) Duodeno

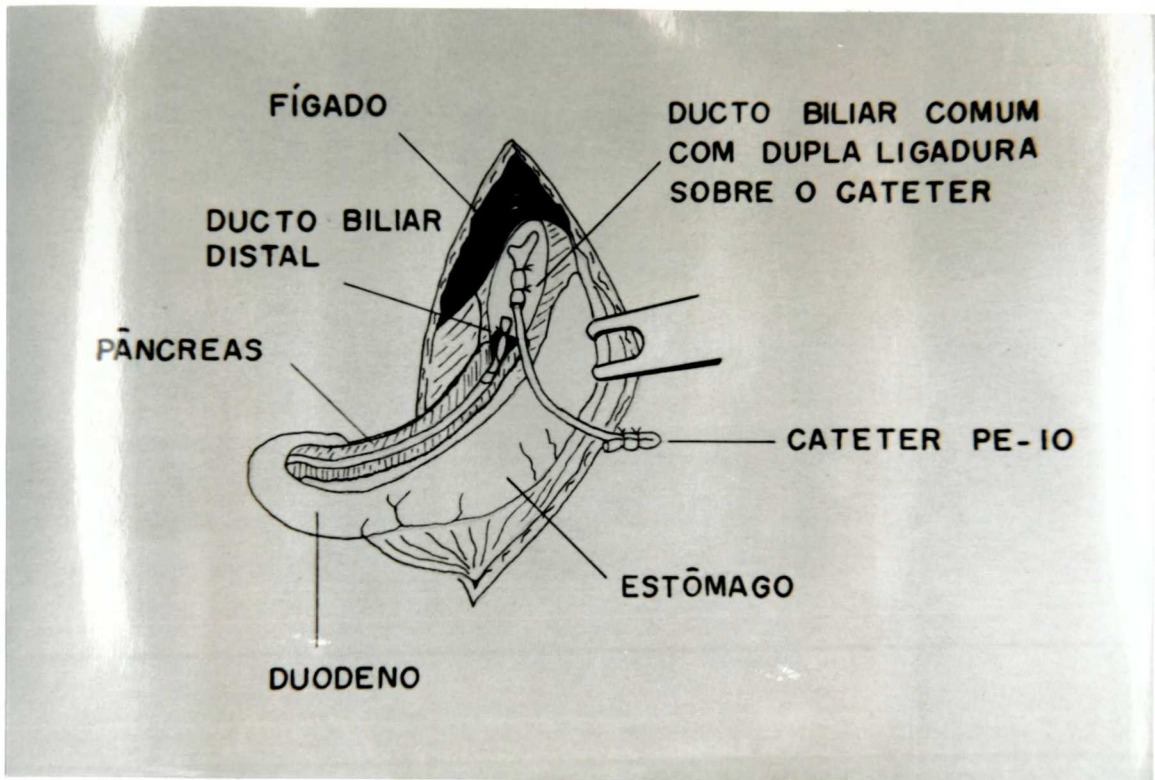


Figura 4. Fechamento da extremidade distal do cateter.
Aspecto final da cateterização.



Figura 5. Cateter seccionado e saída da bile na segunda operação. Incisão de 0,5 cm (seta).

na seringa, acoplada com agulha gengival 30 G curta que foi conectada à extremidade distal do cateter (figura 6).

A solução estéril de cloreto de sódio 0,9% (subgrupos Ia e IIa) ou a suspensão de *Escherichia coli* 10^8 UFC/ml (subgrupos Ib e IIb) foi injetada no DBC dos animais após soltar a pinça que ocluiu o cateter. A duração da injeção foi de 40 a 60 segundos. A extremidade exteriorizada foi ocluída novamente por dupla ligadura com fio de algodão 4-0 e recolocada no tecido celular subcutâneo. Sutura da pele com 1 ponto.

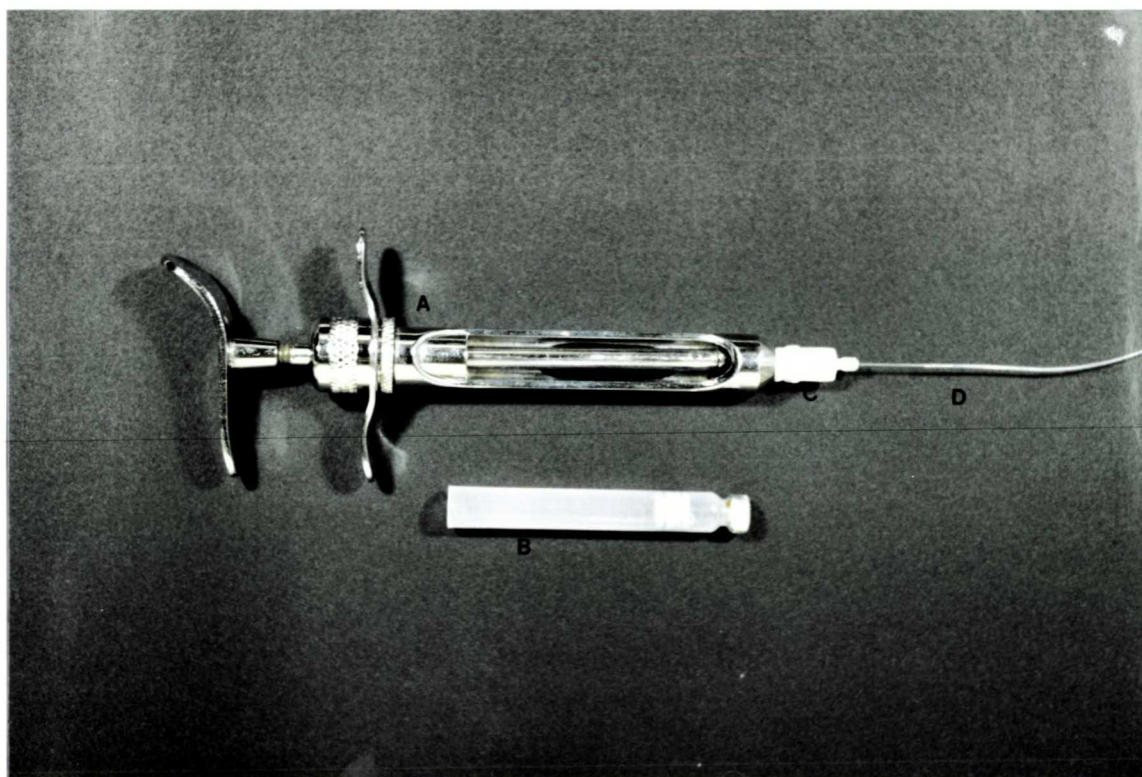


Figura 6. Conjunto preparado para injeção através do cateter. A) Seringa carpule. B) Tubete. C) Agulha gengival 30 G curta. D) Cateter.

3.4- EVOLUÇÃO E SACRIFÍCIO

Os animais foram observados diariamente no período de obstrução biliar. Os animais que morreram nesta etapa, foram excluídos da avaliação histológica, bem como os que morreram no ato anestésico ou tiveram infecção da parede abdominal, exceto um animal do subgrupo IIa, por ser controle.

Após a segunda operação, a observação foi feita a cada 4 horas durante 168 horas. Quando os animais apresentavam sinais de sofrimento grave, a observação clínica passou a ser mais repetida, até a morte.

No óbito ou sacrifício, o abdome foi aberto e realizada uma inspeção macroscópica das vísceras. A bile foi colhida de forma asséptica e enviada para cultura. O fígado e o DBC foram retirados e imediatamente mergulhados em formol a 10%. Após a fixação, foram colhidas amostras do fígado e do DBC, representativas das diferentes lesões observadas à macroscopia. As amostras foram processadas automaticamente (processador de tecidos AUTOTECHNICON), incluídas em parafina e submetidas a microtomia com cortes de 4 micrometros de espessura. Foram coradas pela técnica da hematoxilina e eosina e em alguns casos, pelo tricrômio de MALLORY.

O estudo anátomo-patológico foi realizado no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

3.5 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.

Baseados em estudos histológicos prévios 9,10,12,13,38,39,52,67 de obstrução do DBC, em ratos, foram estudadas as seguintes alterações:

3.5.1) fígado

A - Obstrutivas

- colestase
- proliferação ductal

B - Inflamatórias

- congestão ou dilatação vascular
- edema portal
- infiltrado inflamatório polimorfonuclear
- infiltrado inflamatório monomorfonuclear
- hiperplasia das células de Kupffer
- exocitose polimorfonuclear no epitélio ductal, edema e necrose dos ductos.

C - Degeneração, necrose celular e alterações infecciosas:

- necrose coagulativa
- exsudação neutrofilica sinusoidal
- necrose supurativa - microabscesso
- necrose supurativa - abscesso

D - Regeneração celular.

- mitoses e binucleação dos hepatócitos
- nódulos de hepatócitos

E - Fibrose

- periductal
- septos

F - Cirrose

3.5.2) Ducto biliar comum.

A - Inflamação aguda

B - Úlcera

C - Gangrena

F - Abscesso

Quando não houve ocorrências de alterações, convencionou-se chamar ausente (0). Quando encontradas, foram graduadas como: discreta (+), moderada (++) e acentuada (+++). Nas alterações do ducto biliar comum foi utilizada a mesma graduação (0 a +++). A gangrena do DBC foi classificada apenas se ausente (0) e presente (+). O item proliferação ductal foi classificado: se limitado ao espaço porta (+), até a lâmina limitante (++) e com invasão do lóbulo hepático (+++).

3.6- Método estatístico

O grau de significância estatística foi determinado para $p < 0,05$ em todos os testes realizados.

Foram confeccionadas tabelas de duas entradas com aplicação do teste de correlação de Pearson para avaliação do tempo de vida e as variáveis de alterações obstrutivas; inflamatórias; de degeneração, necrose celular e infecciosas do fígado, e para as alterações do DBC.

A diferença de mortalidade entre os subgrupos Ib e IIb foi calculada pelo teste de probabilidade exata de Fisher.

4 . RESULTADOS

4.1. EVOLUÇÃO CLÍNICA E CONTROLE BACTERIOLÓGICO.

Dentre os 16 animais do grupo I, não houve morte espontânea no período de 7 dias de obstrução biliar e a cultura de bile colhida na ocasião da segunda operação foi negativa em todos.

Subgrupo Ia (Controle com injeção de solução estéril de cloreto de sódio 0,9%): na ocasião da segunda operação, dois animais apresentavam infecção de parede, sendo excluídos. Não houve mortalidade neste subgrupo (tabela I) até o final da segunda etapa de observação, que correspondeu a 168 horas. Todas as culturas da bile foram negativas e nenhum animal apresentou sinais de infecção demonstrados pela piloereção, taquipnéia e letargia.

Subgrupo Ib (injeção de bactérias) : constituído por 11 animais. Um foi excluído por morrer na anestesia da segunda operação. O tempo de vida, após a segunda etapa, está demonstrada na tabela I. Apenas 1 animal deste subgrupo sobreviveu a 168 horas e foi sacrificado. Cerca de 4 horas após a injeção da suspensão de *Escherichia coli*, todos os ratos apresentavam piloereção. A taquipnéia foi crescente, assim como foi progressiva a letargia. Minutos antes de suas mortes, não apresentavam reação a estímulo doloroso. Em todos os animais a cultura de bile apresentou desenvolvimento de *Escherichia coli*.

TABELA I

TEMPO DE VIDA APÓS INJEÇÃO DE SORO FISIOLÓGICO (SUBGRUPOS IA E IIA) OU SUSPENSÃO DE *ESCHERICHIA COLI* (SUBGRUPOS IB E IIB) NO DBC (HORAS)

Rato n\	Subgrupo Ia	Subgrupo Ib	Subgrupo Iia	Subgrupo Iib
1	168	30	168	12
2	168	36	168	12
3	168	60	*	24
4	-	72	-	30
5	-	72	-	72
6	-	72	-	120
7	-	90	-	168
8	-	96	-	168
9	-	120	-	-
10	-	168	-	-

* Óbito após 26 dias de obstrução

DBC = Ducto biliar comum

Dos 16 animais do grupo II, 3 morreram no período de obstrução biliar sendo um por evisceração e dois por coleperitonite. Um morreu na anestesia da segunda operação. Dois apresentaram infecção de parede, abscesso ao redor do cateter e bile purulenta na segunda operação. Destes 6 animais, nos quais houve intercorrência, 5 foram excluídos da avaliação histológica. Um foi mantido por pertencer ao grupo controle.

Subgrupo IIa (injeção de solução estéril de cloreto de sódio 0,9%): constituído por 3 animais. Um animal morreu no vigésimo sexto dia por coleperitonite, conseqüente à ruptura do ducto e a cultura da bile desenvolveu *Escherichia coli*. Clinicamente apresentou apenas piloereção. Os outros dois animais não apresentaram sinais de infecção e as culturas da bile foram negativas. O tempo de vida está demonstrado na tabela I.

Subgrupo IIb (injeção de bactérias): constituído de 8 animais, com tempo de vida mostrado na tabela I. As culturas de bile, colhidas na segunda operação, foram negativas. Dois animais sobreviveram após a injeção de bactérias pelo período de 168 horas, quando foram sacrificados. O quadro clínico foi semelhante ao subgrupo Ib, e todos desenvolveram na cultura da bile *Escherichia coli*.

A diferença entre a mortalidade dos subgrupos Ib e IIb não foi estatisticamente significativa para $p < 0,05$. (Tabela II).

TABELA II

DIFERENÇAS DE MORTALIDADE NO INTERVALO DE 168 HORAS APÓS A INJEÇÃO DE BACTÉRIAS

Subgrupos	Total de ratos	Número de óbitos	p
Ib	10	9	0,4118
IIb	8	6	

4.2 MACROSCOPIA

Na ocasião do óbito ou sacrifício, foi feita abertura da cavidade abdominal e avaliou-se o DBC e o fígado.

Foi encontrada ascite em 4 animais do grupo II.

No animal n\ 7 do subgrupo IIb havia fibrina e pus na superfície diafragmática do fígado e no animal n\ 3 do subgrupo IIa, havia fibrina e pus em toda cavidade abdominal.

Sempre ocorreram aderências entre a extremidade do DBC obstruído, o epíplon e o duodeno (figura 7), sendo que algumas áreas do ducto dilatado estavam livres de aderência (figura 8). A dilatação sacular do DBC foi mais acentuada no grupo II (figura 9) em relação ao grupo I (figura 10). Na colheita da bile para cultura, em um animal do subgrupo Ib e em outro do subgrupo IIb, esta era hemorrágica (figura 11). Nos demais apresentou-se francamente purulenta (figura 12), e nos animais sacrificados, que atingiram 168 horas de evolução, apresentava-se também com grumos. Em todos os animais a mucosa estava edemaciada (figura 13) e recoberta por fibrina (figura 14), porém mais acentuada nos animais que receberam injeção de bactérias (figura 15).



Figura 7. Aderências na extremidade proximal do ducto biliar comum após 7 dias de obstrução, 72 horas após a injeção de bactérias. A) Cateter. B) Epiplon. C) Pâncreas. D) Duodeno.



Figura 8. Ducto biliar dilatado por obstrução de 7 dias, 72 horas após a injeção de bactérias, com área livre de aderências. A) Ducto biliar comum. B) Duodeno

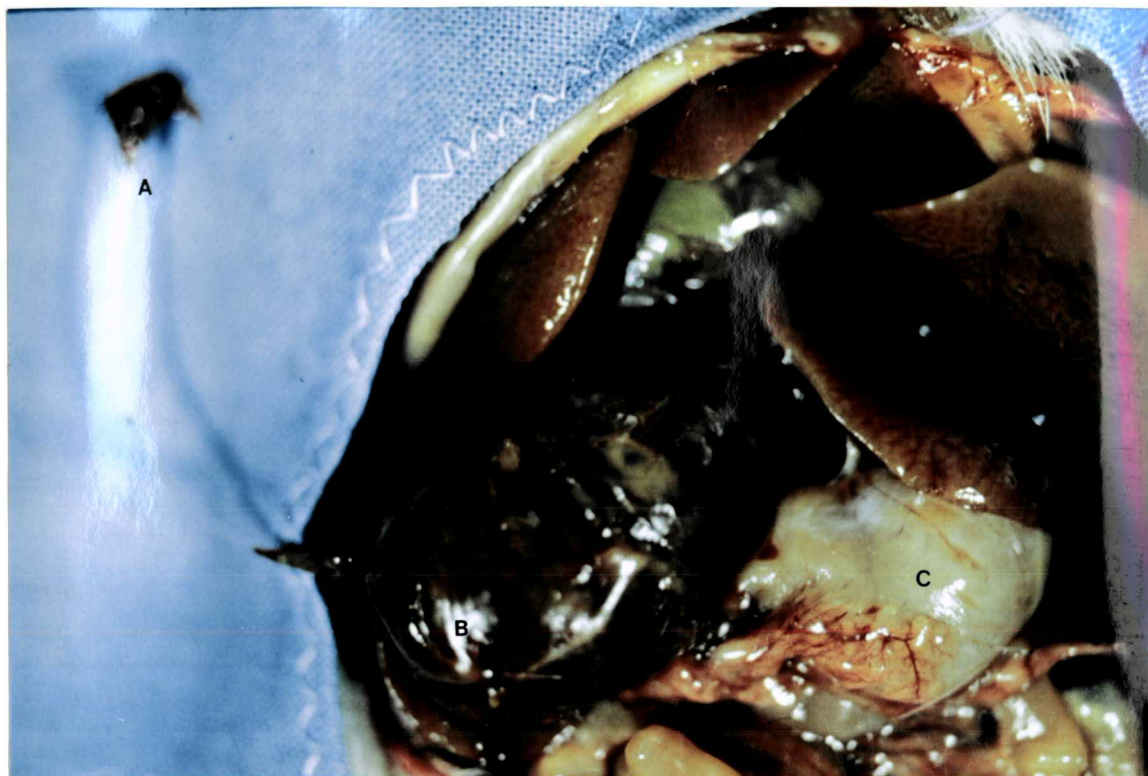


Figura 9. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 28 dias, 72 horas após injeção de bactérias. A) Cateter. B) Ducto biliar comum. C) Estômago. D) Fígado



Figura 10. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 28 dias, 72 horas após injeção de bactérias. A) Ducto biliar comum. B) Extremidade proximal do ducto biliar. C) Cateter com extremidade ocluída.

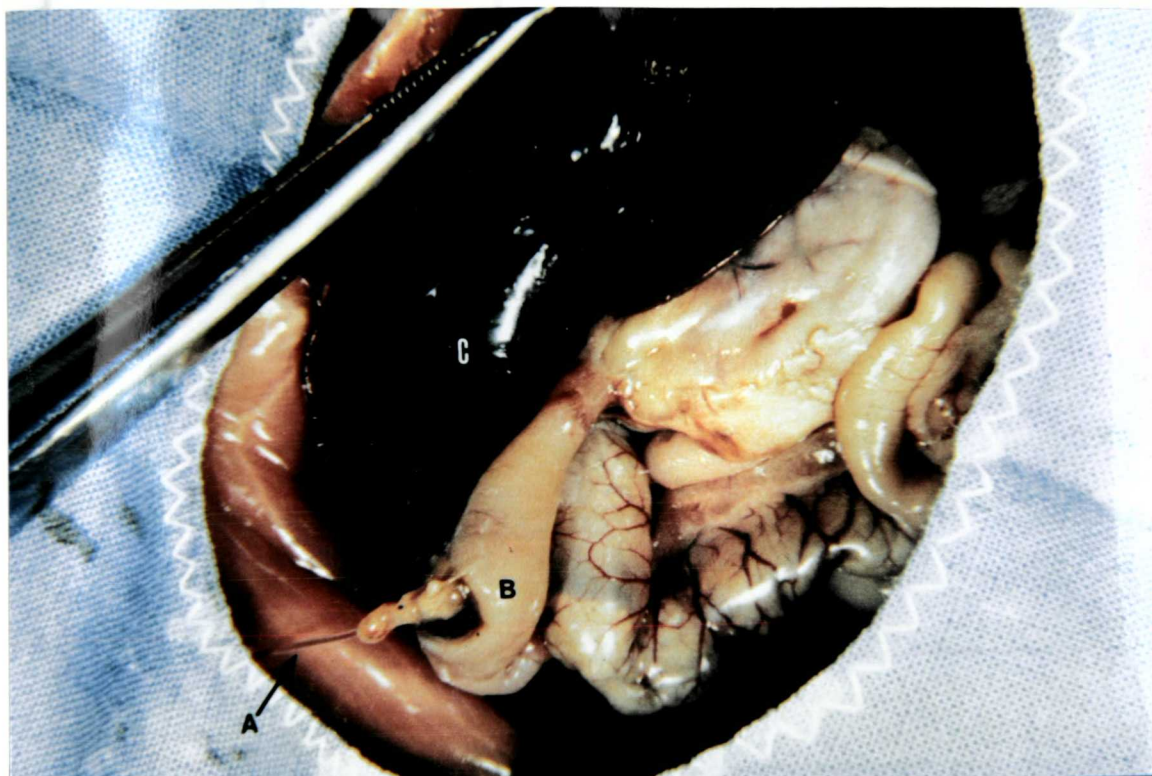


Figura 11. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias e 36 horas após a injeção de bactérias, contendo bile hemorrágica. A) Cateter com bile hemorrágica. B) Duodeno. C) Ducto biliar comum.



Figura 12. Bile purulenta.



Figura 13. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias. Aberto 168 horas após a injeção de soro fisiológico. Edema da mucosa. A) Extremidade do cateter. B) Dupla ligadura de fixação. C) Cateter intraductal. D) Mucosa com edema.

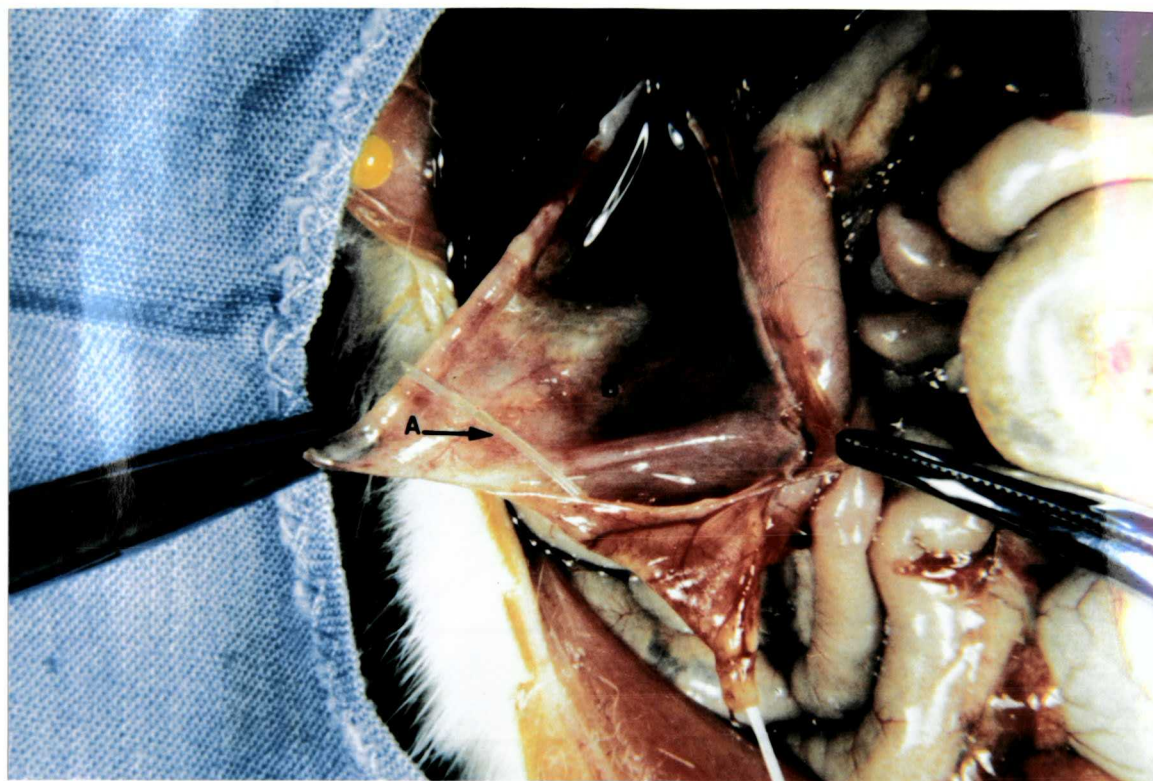


Figura 14. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias. Aberto 168 horas após a injeção de soro fisiológico. Área de fibrina. A) Cateter intraductal B) Mucosa com fibrina.



Figura 15. Ducto biliar comum dilatado por obstrução de 7 dias. Aberto 36 horas após a injeção de bactérias. Mucosa recoberta por fibrina. A) Cateter intraductal. B) Muco recoberta por fibrina. C) Duodeno.

A superfície hepática apresentava granulações amareladas (figura 16) em dois animais do subgrupo Ia, 7 animais do subgrupo Ib, um animal do subgrupo Ila e 4 animais do subgrupo Ilb. O fígado sempre se apresentava congesto, discretamente aumentado de tamanho, com bordos rombos (figura 17)

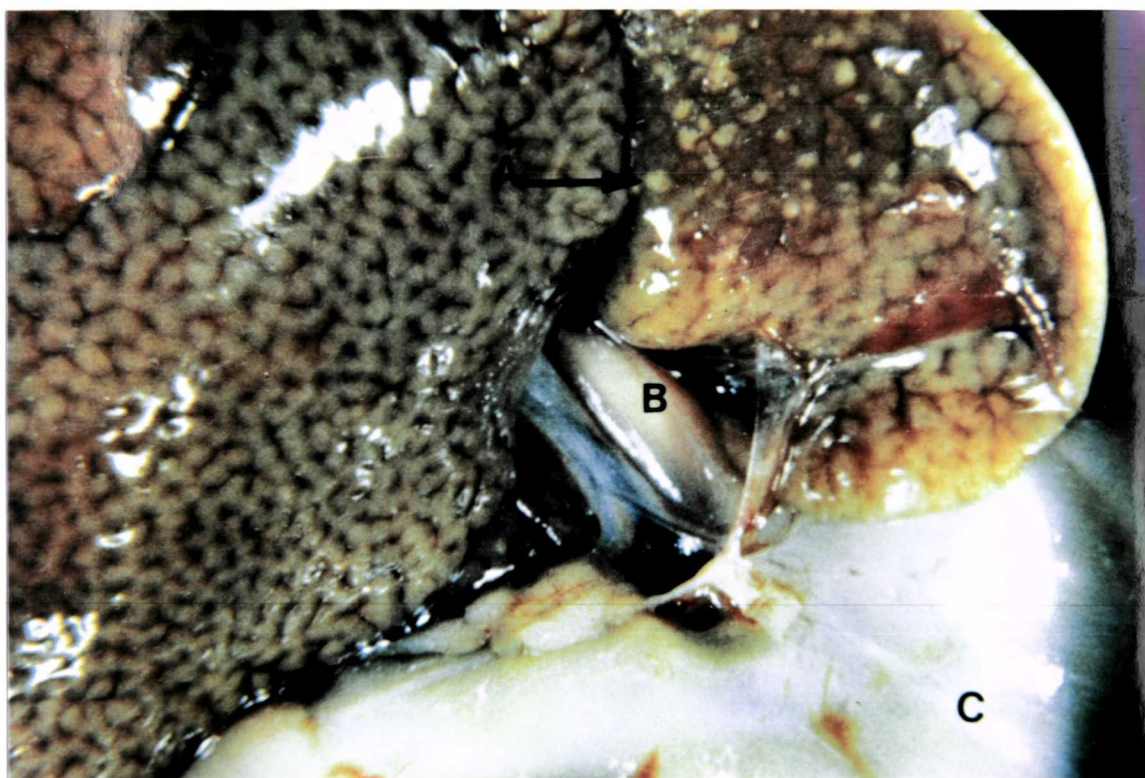


Figura 16. Superfície hepática com granulações amareladas.
A) Abscesso hepático. B) Esôfago C) Estômago.



Figura 17. Fígado congesto com bordos rombos. A) Ducto biliar comum. B) Rim direito. C) Veia cava inferior. D) Veia porta.

4.3 MICROSCOPIA

4.3.1 - Fígado

A- Alterações obstrutivas.

Não foram vistos ductos e canaliculos com conteúdo de coloração biliar, assim como em nenhuma das lâminas foi encontrado infarto biliar.

No grupo I, apenas o animal n\ 3 do subgrupo Ia, a proliferação ductal ultrapassou a lâmina limitante. Nos demais, este fato se limitou ao espaço porta e à lâmina limitante (figura 18). A arquitetura do lóbulo estava preservada neste grupo.

No grupo II houve proliferação ductal intensa com invasão do lóbulo em substituição ao parênquima hepático. Os animais número 3 do subgrupo IIa e número 7 do subgrupo IIb foram excessões, pois a proliferação ductal não ultrapassou a lâmina limitante. Nestes animais ocorreu a perfuração do ducto biliar comum.

B- Alterações inflamatórias.

No subgrupo Ia houve uma tênue dilatação ou congestão vascular. Foi observado edema portal e infiltrado inflamatório agudo e crônico discretos. A hiperplasia das células de Kupffer foi muito discreta no rato número 1, porém nos animais número 2 e número 3 foi moderada (tabela III).

TABELA III

ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DO FIGADO

Subgrupo Ia

Rato n\	Tempo de Vida (h.)	Conge. ou Di. Vascu.	Edema Port.	Infil. Infl. PMN	Infil. Infl. MMN	Hiper. Ce. de Kupf.	Exocito. PMN Edema e Necro. dos Ductos
1	168	0	+	+	+	+	0
2	168	0	+	+	+	++	+
3	168	0	+	+	+	++	+

Legenda:

Conge. = Congestão
 Di. = Dilatação
 Port. = Portal
 Infil. = Infiltrado
 Infl. = Inflamatório
 Hiper. = Hiperplasia
 Ce. = Células
 Kupf. = Kupfer
 Exocito. = Exocitose
 Necro. = Necrose

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado

PMN = polimorfonuclear
 MMN = monomorfonuclear

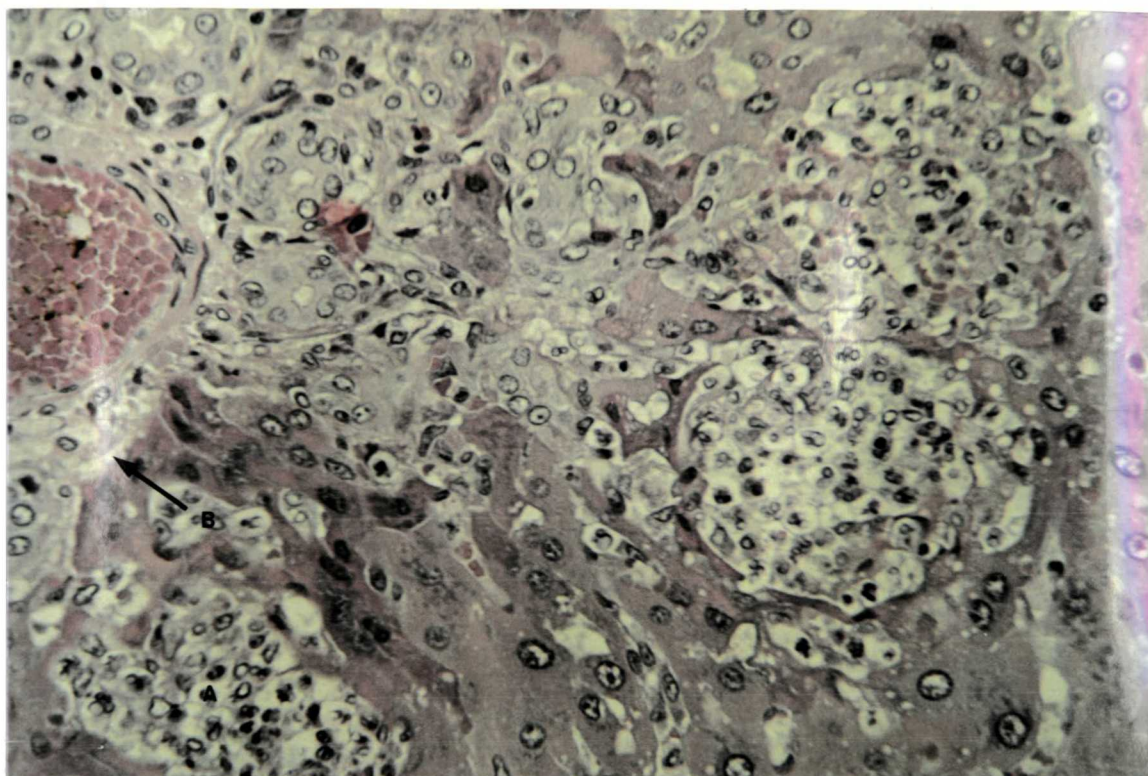


Figura 18. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 30 horas após injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x). Espaço porta alargado, epitélio ductal biliar tumefeito e microabscesso (A) próximos a lâmina limitante (B). Não há invasão do lóbulo por ductos neoformados.

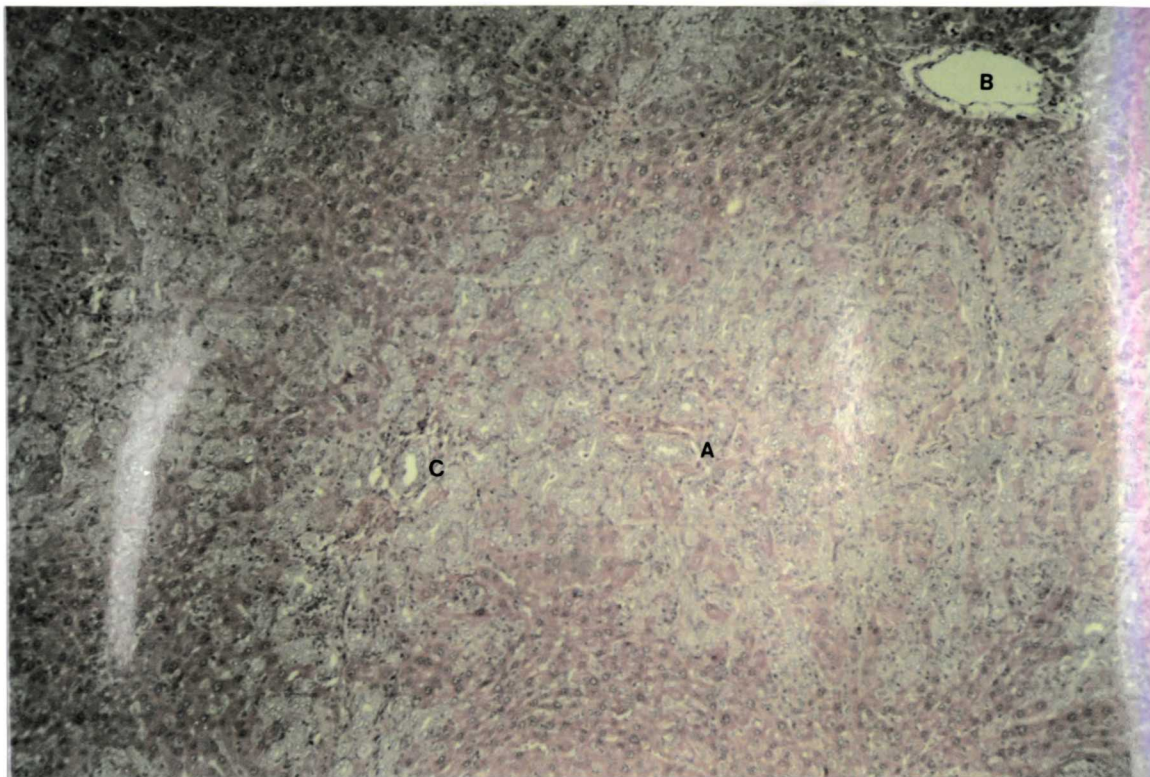


Figura 19. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 168 horas após a injeção de soro fisiológico (Hematoxilina e eosina, 100x). Intensa proliferação ductal (A), veia central (B) e espaço porta (C).

No subgrupo Ib, as alterações foram mais intensas nos animais com tempo de vida mais curto (tabela IV). Assim, os animais com tempo de vida de até 72 horas apresentaram alterações inflamatórias mais intensas. Para estas variáveis inflamatórias, houve correlação inversa com o tempo de vida (tabelas V, VI, VII, VIII).

No subgrupo IIa, as alterações inflamatórias foram consideradas discretas ou ausentes (tabela IX). A hiperplasia das células de Kupffer foram também discretas. No animal número 3, em que houve perfuração espontânea do ducto comum, a hiperplasia adquiriu grau moderado.

No subgrupo IIb (tabela X), até 30 horas após a injeção de bactérias, houve alterações intensas. O animal n° 7 teve alterações discretas. Houve correlação inversa moderada entre os parâmetros inflamatórios e o tempo de vida para as variáveis de congestão ou dilatação vascular (tabela XI), edema portal (tabela XII), infiltrado inflamatório polimorfonuclear (tabela XIII) e hiperplasia das células de Kupffer (tabela XIV).

C - Alterações de degeneração, necrose celular e infecciosas.

Não houveram alterações infecciosas no subgrupo Ia (tabela XV) e IIa (tabela XVI). Ocorreu necrose coagulativa de discreta a moderada neste subgrupo.

TABELA IV

ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DO FIGADO

Subgrupo Ib

Rato n\	Tempo de Vida (h.)	Conge. ou Di. Vascu.	Edema Port.	Infil. Infl. PMN	Infil. Infl. MMN	Hiper. Ce. de Kupf.	Exocito. PMN Edema e Necro. dos Ductos
1	30	+++	+++	+++	+	+++	++
2	36	+++	+++	+++	+	++	++
3	60	++	++	++	+	+++	++
4	72	+++	+++	+	+	+++	++
5	72	++	++	+++	+	+++	++
6	72	++	++	+	+	+++	+++
7	90	+	+	+	+	+++	+
8	96	+	+	+	+	++	++
9	120	+	+	+	+	++	++
10	168	+	+	0	+	+	+

Legenda:

Conge. = Congestão
 Di. = Dilatação
 Port. = Portal
 Infil. = Infiltrado
 Infl. = Inflamatório
 Hiper. = Hiperplasia
 Ce. = Células
 Kupf. = Kupfer
 Exocito. = Exocitose
 Necro. = Necrose

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado
 PMN = Polimorfonuclear
 MMN = Monomorfonuclear

TABELA V

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO A CONGESTÃO OU DILATAÇÃO
VASCULAR: SUBGRUPO IB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	2	-	-	-	2	
60-72	1	3	-	-	4	$r = - 0,7987$
90-96	-	-	2	-	2	
>120	-	-	2	-	2	
Totais (n \ de ocorrências)	3	3	4	0	10	

TABELA VI

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO AOEDEMA PORTAL: SUBGRUPO IB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	2	-	-	-	2	
60-72	1	3	-	-	4	$r = -0,7987$
90-96	-	-	2	-	2	
>120	-	-	2	-	2	
Totais (n \ de ocorrências)	3	3	4	0	10	

TABELA VII

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO COM O INFILTRADO INFLAMATÓRIO
POLIMORFONUCLEAR: SUBGRUPO IB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	2	-	-	-	2	
60-72	1	1	2	-	4	$r = - 0,8224$
90-96	-	-	2	-	2	
>120	-	-	1	1	2	
Totais (n\ de ocorrências)	3	1	5	1	10	

TABELA VIII

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO AHIPERPLASIA DAS CÉLULAS DE KUPFFER: SUBGRUPO IB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	2	-	-	-	2	
60-72	4	-	-	-	4	$r = -0,8870$
90-96	1	1	-	-	2	
>120	-	1	1	-	2	
Totais (n \ de ocorrências)	7	2	1	0	10	

TABELA IX

ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DO FIGADO

Subgrupo IIa

Rato n\	Tempo de Vida (h.)	Conge. ou Di. Vascu.	Edema Port.	Infil. Infl. PMN	Infil. Infl. MMN	Hiper. Ce. de Kupf.	Exocito. PMN Edema e Necro. dos Ductos
1	168	0	+	+	+	+	+
2	168	0	+	+	+	+	+
3	*	0	+	+	+	++	+

* Óbito no 26\ dia de obstrução biliar

Legenda:

Conge. = Congestão
 Di. = Dilatação
 Port. = Portal
 Infil. = Infiltrado
 Infl. = Inflamatório
 Hiper. = Hiperplasia
 Ce. = Células
 Kupf. = Kupfer
 Exocito. = Exocitose
 Necro. = Necrose

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado
 PMN = Polimorfonuclear
 MMN = Monomorfonuclear

TABELA X

ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS DO FÍGADO

Subgrupo IIb

Rato n\	Tempo de Vida (h.)	Conge. ou Di. Vascu.	Edema Port.	Infil. Infl. PMN	Infil. Infl. MMN	Hiper. Ce. de Kupf.	Exocito. PMN Edema e Necro. dos Ductos
1	12	++	+++	++	+	++	+++
2	12	+++	+++	+++	+	+++	+++
3	24	++	++	+	+	++	++
4	30	++	+++	++	+	++	+++
5	72	++	++	+	+	++	+
6	120	+	+	+	+	+	+
7	168	0	0	0	+	0	+
8	168	+	++	+	+	+	++

Legenda:

Conge. = Congestão

Di. = Dilatação

Port. = Portal

Infil. = Infiltrado

Infl. = Inflamatório

Hiper. = Hiperplasia

Ce. = Células

Kupf. = Kupfer

Exocito. = Exocitose

Necro. = Necrose

0 = Ausente

+ = Discreto

++ = Moderado

+++ = Acentuado

PMN = Polimorfonuclear

MMN = Monomorfonuclear

TABELA XI

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO A CONGESTÃO OU DILATAÇÃO
VASCULAR: SUBGRUPO IIB

Tempo	+++	++	+	0	Totais (n)	
12	1	1	-	-	2	
24	-	1	-	-	1	
30	-	1	-	-	1	$r = -0,8889$
72	-	1	-	-	1	
120	-	-	1	-	1	
168	-	-	1	1	2	
Totais (n \ de ocorrências)	1	4	2	1	8	

TABELA XII

TEMPO DE VIDA EM RELAÇÃO AO EDEMA PORTAL: SUBGRUPO IIB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
12	2	-	-	-	2	
24	-	1	-	-	1	
30	1	-	-	-	1	$r = -0,7959$
72	-	1	-	-	1	
120	-	-	1	-	1	
168	-	1	-	1	2	
Totais (n \ de ocorrências)	3	3	1	1	8	

TABELA XIII

TEMPO DE VIDA EM RELAÇÃO AO INFILTRADO INFLAMATÓRIO
POLIMORFONUCLEAR: SUBGRUPO IIB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
12	1	1	-	-	2	
24	-	-	1	-	1	
30	-	1	-	-	1	$r = -0,7607$
72	-	-	1	-	1	
120	-	-	1	-	1	
168	-	-	1	1	2	
Totais (n\ de ocorrências)	1	2	4	1	8	

TABELA XIV

TEMPO DE VIDA EM RELAÇÃO A HIPERPLASIA DAS CÉLULAS DE
KUPFFER: SUBGRUPO IIB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
12	1	1	-	-	2	
24	-	1	-	-	1	
30	-	1	-	-	1	$r = -0,8889$
72	-	1	-	-	1	
120	-	-	1	-	1	
168	-	-	1	1	2	
Totais (n \ de ocorrências)	1	4	2	1	8	

TABELA XV

ALTERAÇÕES DE DEGENERAÇÃO, NECROSE CELULAR E INFECCIOSAS

Subgrupo Ia

Rato n\	Tempo de vida (horas)	Necrose Coagul.	Necrose Supura. Flegmo.	Necrose Supura. Microa.	Necrose Supura. Absces.
1(13)	168	+	0	0	0
2(17)	168	++	0	0	0
3(18)	168	+	0	0	0

Legenda:

Supura. = Supurativa
 Flegmo. = Flegmonosa
 Microa. = Microabscesso
 Absces. = Abscesso
 Coagul. = Coagulativa

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado

TABELA XVI

ALTERAÇÕES DE DEGENERAÇÃO, NECROSE CELULAR E INFECCIOSAS

Subgrupo IIa

Rato n\	Tempo de vida (horas)	Necrose Coagul.	Necrose Supura. Flegmo.	Necrose Supura. Microa.	Necrose Supura. Absces.
1	168	++	0	0	0
2	168	++	0	0	0
3	168	+	0	0	0

Legenda:

Supura. = Supurativa
 Flegmo. = Flegmonosa
 Microa. = Microabscesso
 Absces. = Abscesso
 Coagul. = Coagulativa

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado

No subgrupo Ib (tabela XVII), as alterações infecciosas representadas por exsudato neutrofilico sinusoidal e microabscesso foram mais intensas até 72 horas (figuras número 20, 21, 22 e 23) após a injeção de bactérias, enquanto a presença de abscesso se verificou após este periodo (figura 24). As alterações de necrose coagulativa se situaram entre discretas e moderadas. Houve correlação negativa moderada entre o tempo de vida e as variáveis de necrose coagulativa (tabela XVIII), exsudato neutrofilico sinusoidal (tabela XIX) e microabscesso (tabela XX).

No subgrupo IIb (tabela XXI), encontrou-se exsudato neutrofilico sinusoidal e microabscesso mais acentuado até 30 horas de vida (figuras 25, 26 e 27). Nos animais número 7 e número 8, as alterações foram semelhantes ao subgrupo IIa (subgrupo controle). Houve correlação entre o tempo de vida e a ocorrência de microabscesso (tabela XXII), também inversa e moderada.

D- Alterações de regeneração celular

Em todos os animais examinados demonstrou-se a ocorrência de mitoses e binucleação dos hepatócitos, bem como hipertrofia nuclear. Não ocorreu transformação nodular do parênquima hepático.

TABELA XVII

ALTERAÇÕES DE DEGENERAÇÃO, NECROSE CELULAR INFECCIOSA

Subgrupo Ib

Rato n\	Tempo de vida (horas)	Necrose Coagul.	Necrose Supura. Flegmo.	Necrose Supura. Microa.	Necrose Supura. Absces.
1(7.5)	30	++	+++	+++	0
2(7.6)	36	++	++	+++	0
3(7.1)	60	++	++	+	0
4(7.2)	72	++	+	+++	++
5(7.10)	72	++	++	++	+++
6(7.16)	72	++	+	++	++
7(7.3)	90	+	+	+	++
8(7.7)	96	+	+	+	++
9(7.4)	120	+	0	+	+++
10(7.8)	168	+	0	0	++

Legenda:

Supura. = Supurativa
 Flegmo. = Flegmonosa
 Microa. = Microabscesso
 Absces. = Abscesso
 Coagul. = Coagulativa

0 = Ausente
 + = Discreto
 ++ = Moderado
 +++ = Acentuado

TABELA XVIII

TEMPO DE VIDA EM RELAÇÃO À NECROSE COAGULATIVA

Subgrupo Ib						
Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	-	2	-	-	2	
60-72	-	4	-	-	4	$r = -0,7858$
90-96	-	-	2	-	2	
<120	-	-	2	-	2	
Totais (n \ de ocorrências)	0	6	4	0	10	

TABELA XIX

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO COM EXUDATO NEUTROFÍLICO SINUSOIDAL

Subgrupo Ib						
Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	1	1	-	-	2	
60-72	-	2	2	-	4	$r = -0,8832$
90-96	-	-	2	-	2	
>120	-	-	-	2	2	
	1	3	4	2	10	

TABELA XX

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO COM NECROSE SUPURATIVA-
MICROABSCESSO: SUBGRUPO IB

Tempo(h)	+++	++	+	0	Totais (n)	
30-36	2	-	-	-	2	
60-72	1	2	1	-	4	r = -0,8283
90-96	-	-	2	-	2	
>120	-	-	1	1	2	
Totais	3	3	4	2	10	
(n \ de ocorrências)						

TABELA XXI

ALTERAÇÕES DE DEGENERAÇÃO, NECROSE CELULAR E INFECCIOSAS:
SUBGRUPO IIB

Rato n\	Tempo de vida (horas)	Necrose Coagul.	Necrose Supura. Flegmo.	Necrose Supura. Microa.	Necrose Supura. Absces.
1	12	++	0	+	0
2	12	+	+++	++	+
3	24	++	++	++	++
4	30	+	++	+	+
5	72	+	+	+	+
6	120	++	+	+	+++
7	168	0	0	0	0
8	168	+	+	0	0

Legenda:

Supura. = Supurativa
Flegmo. = Flegmonosa
Microa. = Microabscesso
Absces. = Abscesso
Coagul. = Coagulativa

0 = Ausente
+ = Discreto
++ = Moderado
+++ = Acentuado

TABELA XXII

TEMPO DE VIDA EM CORRELAÇÃO A NECROSE SUPURATIVA-
MOCROABSCESSO

Tempo(h)	Subgrupo IIb				Totais (n)	
	+++	++	+	0		
12	-	1	1	-	2	
24	-	1	-	-	1	
30	-	-	1	-	1	$r = -0,8399$
72	-	-	1	-	1	
120	-	-	1	-	1	
168	-	-	-	2	2	
Totais (n \ de ocorrências)	0	2	4	2	8	

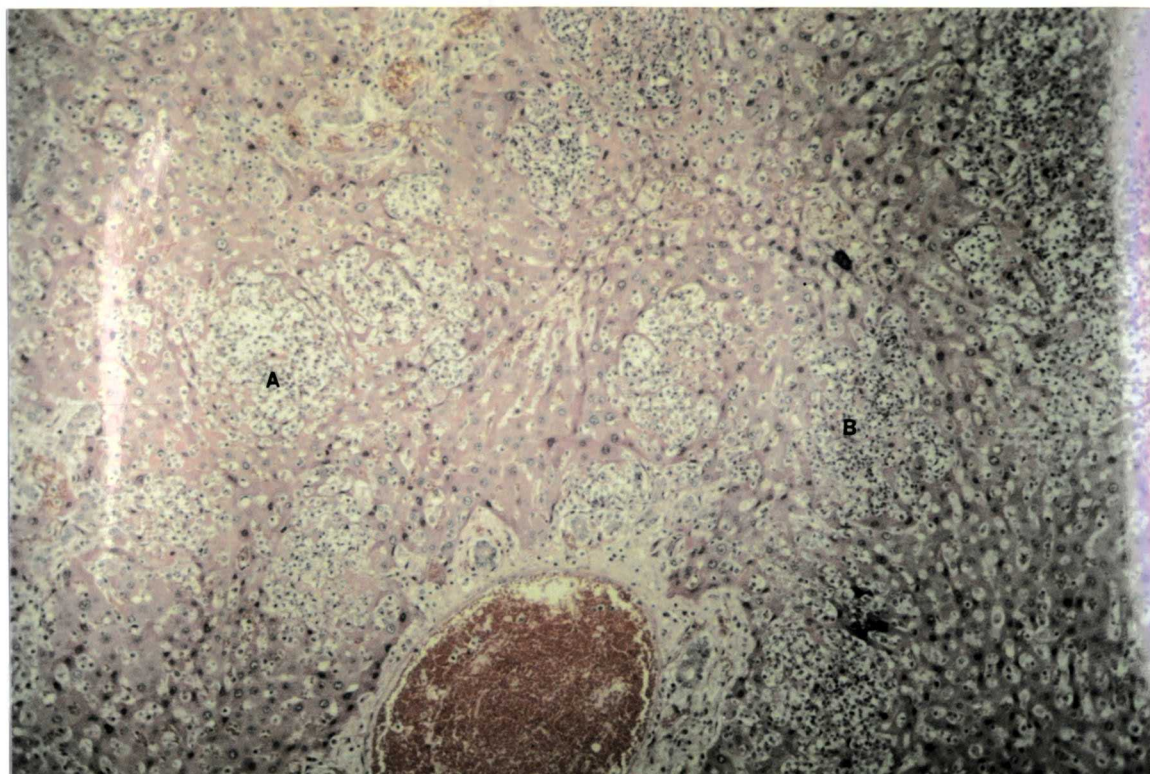


Figura 20. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 30 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 100x). Inúmeros microabscessos (A) e áreas de exsudato neutrofilico sinusoidal (B).

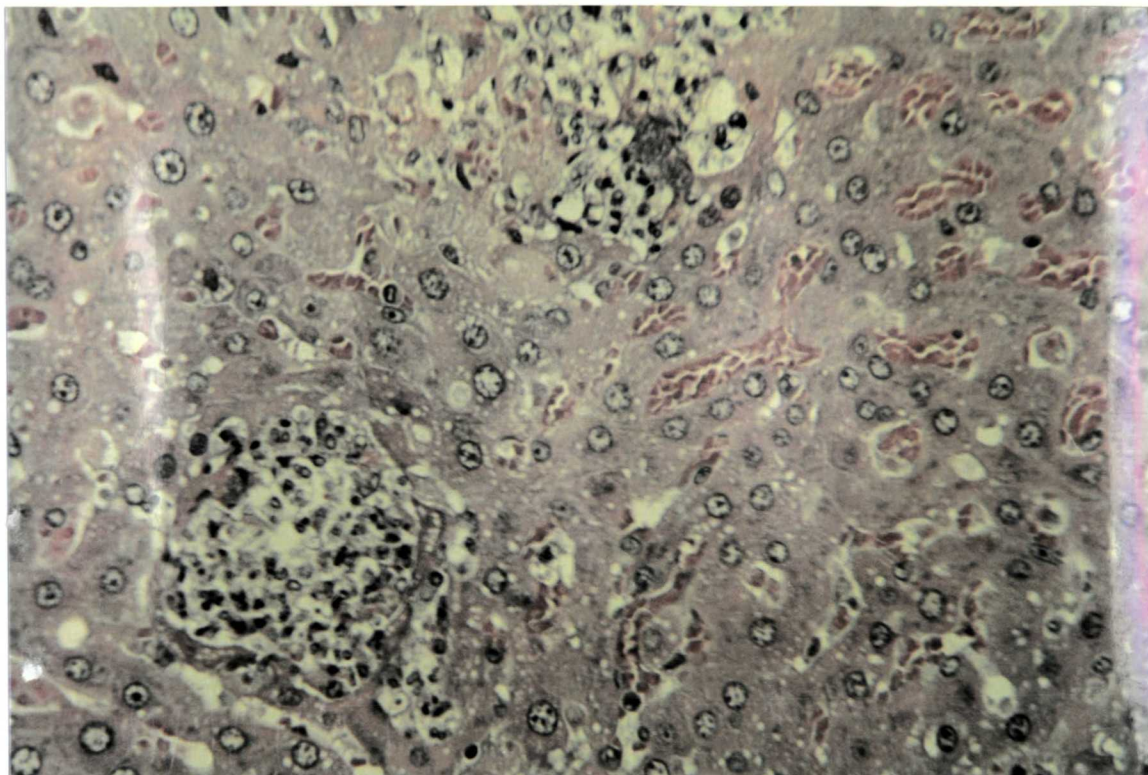


Figura 21. Alterações teciduais do fígado por 7 dias de obstrução biliar , 36 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x). Dois microabscessos (A) em meio ao lóbulo hepático, congestão sinusoidal (B) e células de Kupffer proeminentes (C).

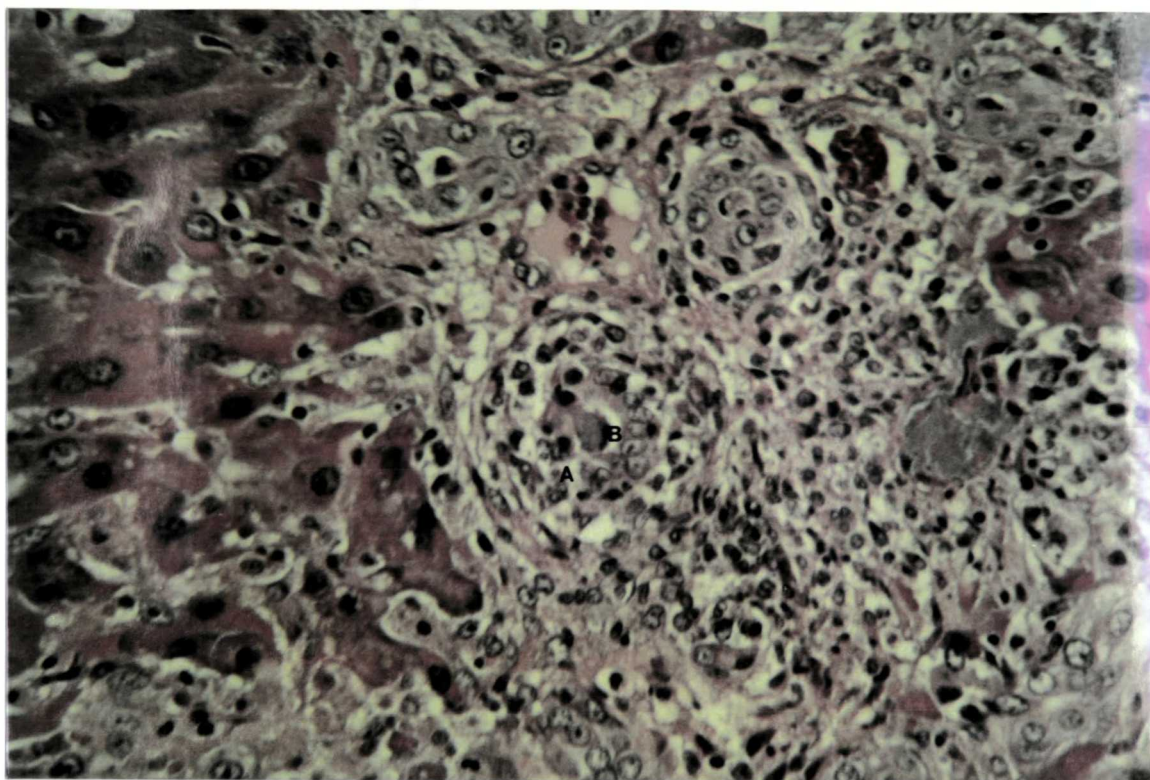


Figura 22. Alterações teciduais do figado por obstrução biliar, 72 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x). Espaço porta alargado por edema ductos biliares com colangite supurativa, ruptura focal do epitélio ductal (A) e bactérias intraducto (B).

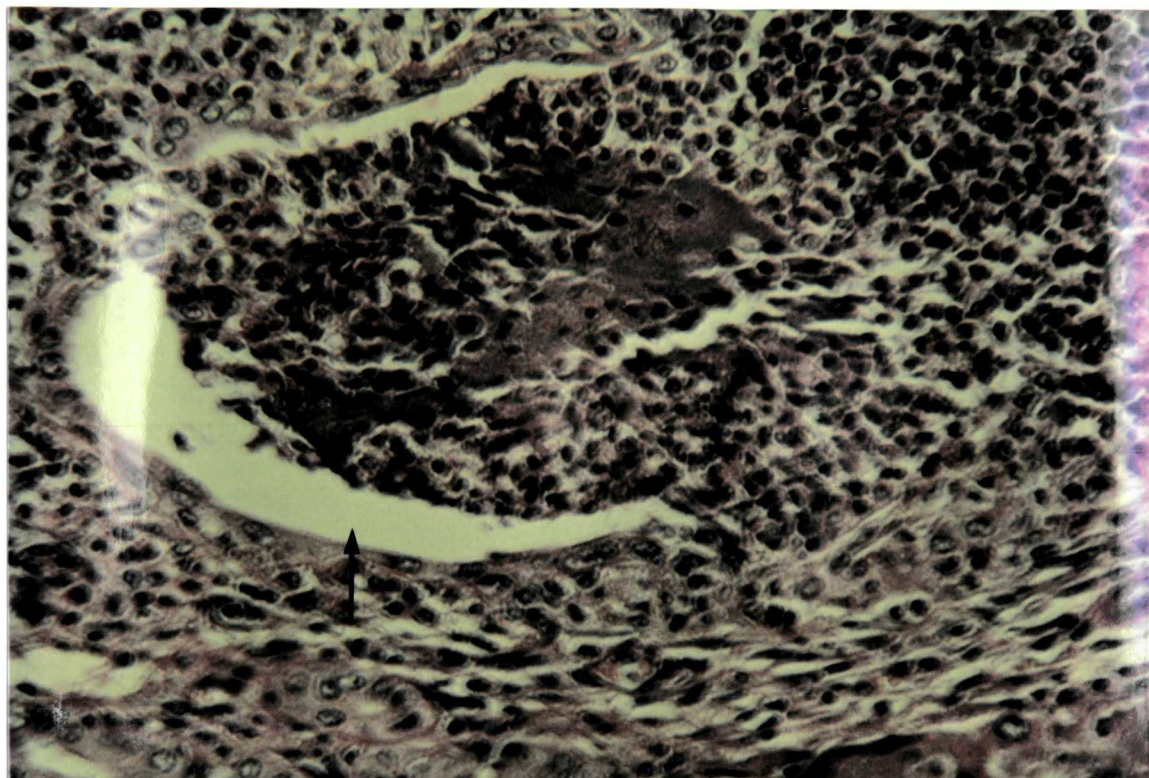


Figura 23. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 7 dias, 72 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x). Ducto biliar original (seta) com epitélio achatado, exsudato purulento com colônias bacterianas na luz e ruptura para o conjuntivo portal.

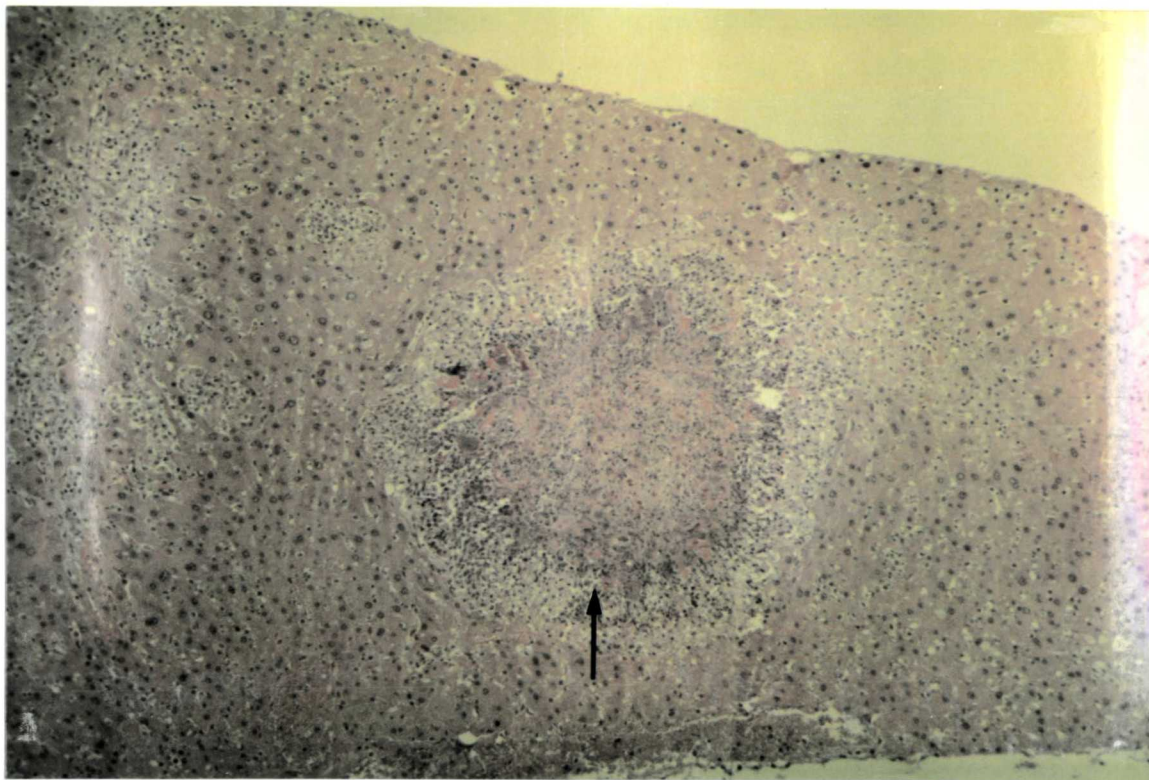


Figura 24. Alterações teciduais do figado por obstrução biliar de 7 dias, 90 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 100x). Lóbulo hepático com abscesso central (seta).

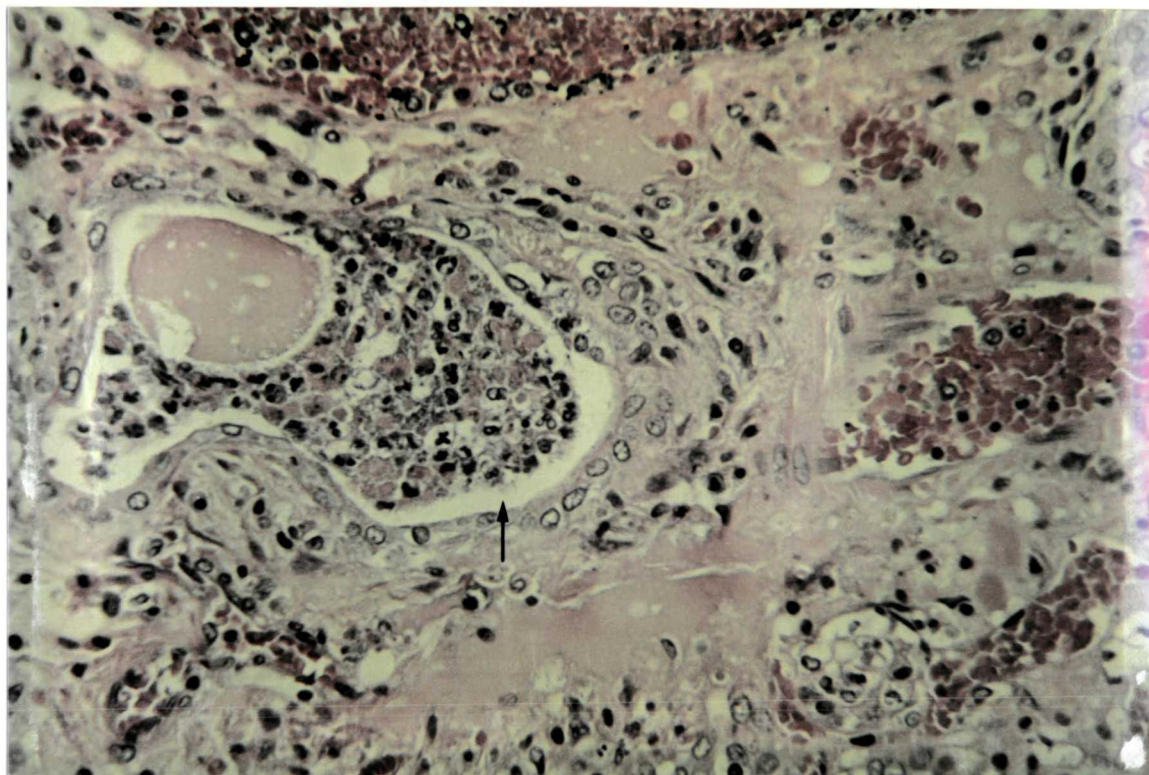


Figura 25. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 12 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x). Ducto biliar original dilatado (seta) com epitélio achatado e degenerado. Exsudato purulento na luz, junto ao material proteináceo. Edema e congestão portal acentuados.

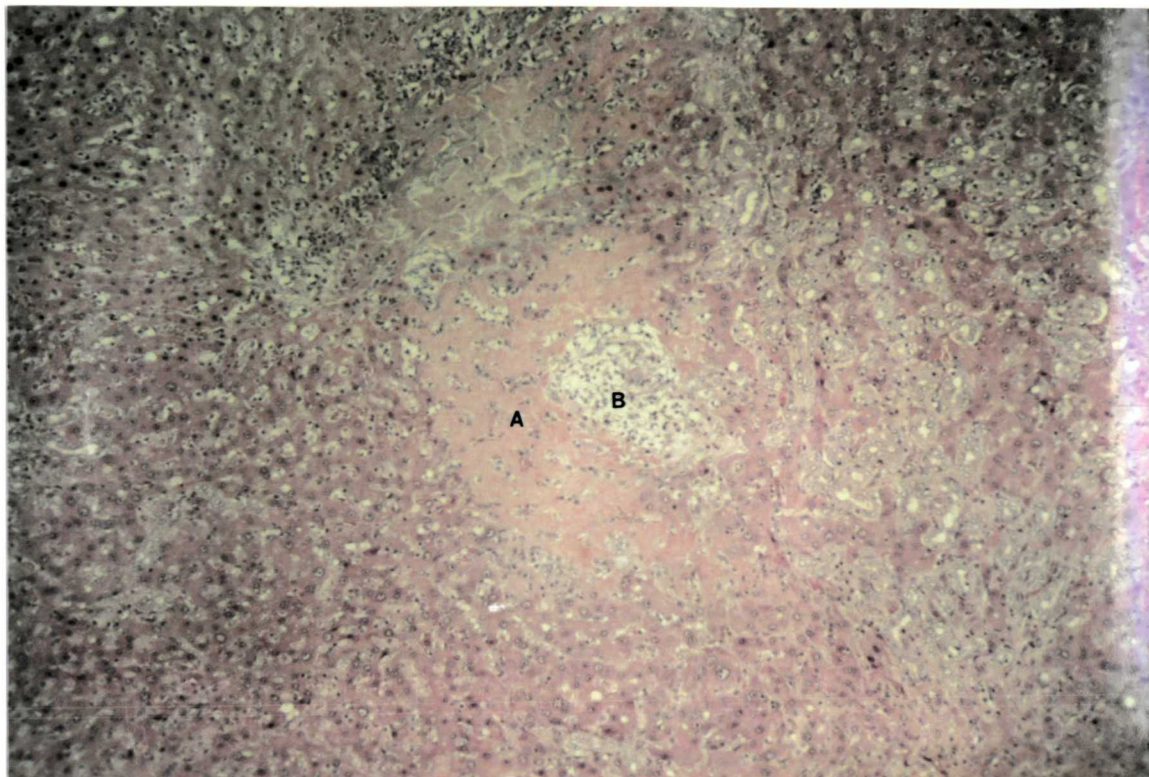


Figura 26. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 30 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 100x). Áreas focais de necrose coagulativa (A) com microabscesso central (B). À esquerda há hepatócitos preservados, à direita ductos biliares neoformados.

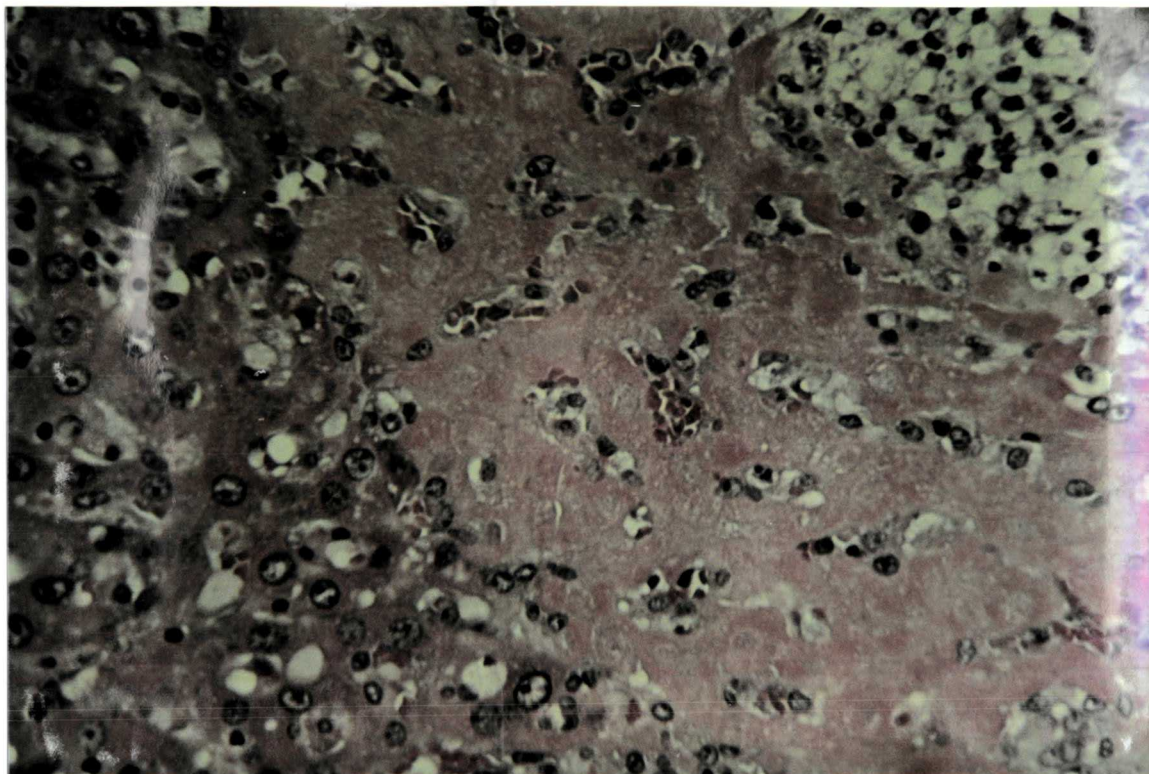


Figura 27. Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 72 horas após a injeção de bactérias. (Hematoxilina e eosina, 400x).Hepatócitos preservados à esquerda, necrose coagulativa central e microabscesso à direita.

E- Alterações de Fibrose

A formação de tecido fibroso periductal foi escassa e esporádica nos animais dos grupos I (figura 28) e II (figura 29). Não houve formação de septos fibrosos.

F- Cirrose

Nenhum animal desenvolveu cirrose hepática.

4.3.2-Ducto biliar comum

As alterações sobre o DBC (figuras 30 e 31) nos 4 subgrupos são mostrados nas tabelas (XXIII, XXIV, XXV e XXVI) . Não houve correlação entre o tempo de vida após a injeção de bactérias e as alterações do ducto biliar. Ocorreu gangrena na parede do ducto no animal n\ 3 do subgrupo IIa e nos animais n\5 e n\ 7 do subgrupo IIb.

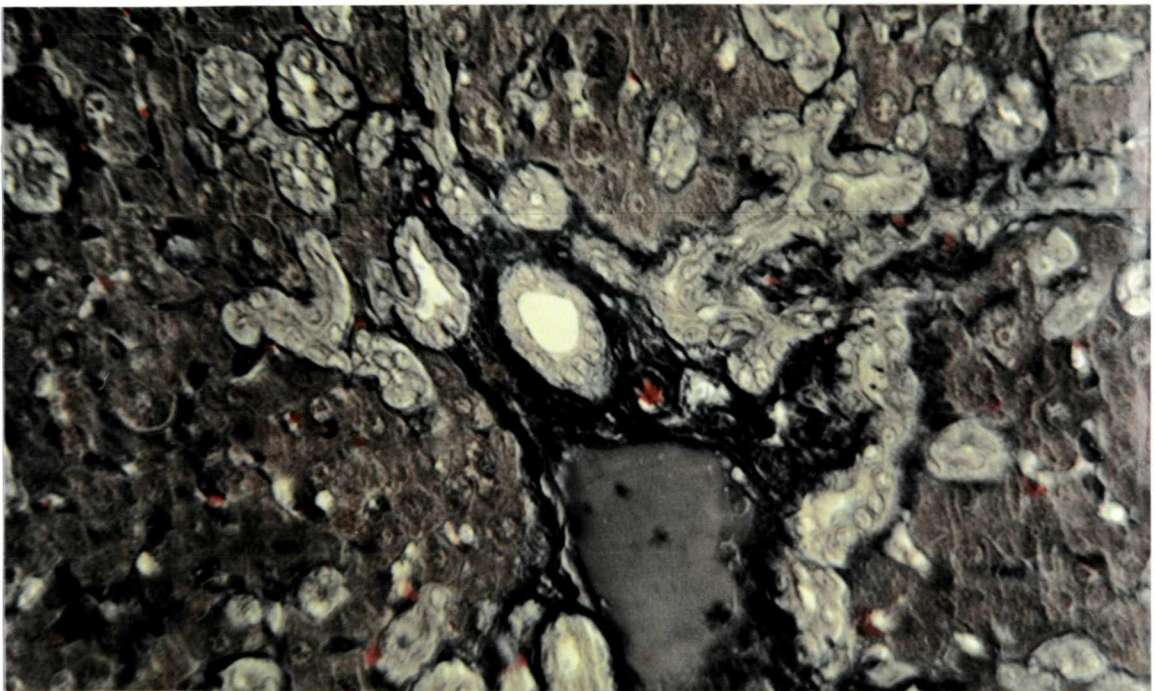


Figura 28- Conjuntivo fibroso normal em azul (tricrômico de Mallory- 400x).

4.3.3-Estudo estatístico

O método estatístico de correlação de PEARSON ⁶ validou apenas as correlações de moderada e forte intensidade, ocorrendo de forma inversa, pela maior intensidade de alterações microscópicas nos animais com tempos menores de vida, após a injeção de bactérias intraductal.

Nos subgrupos Ia e IIa, a amostragem, por ser pequena, não permitiu tratamento estatístico.

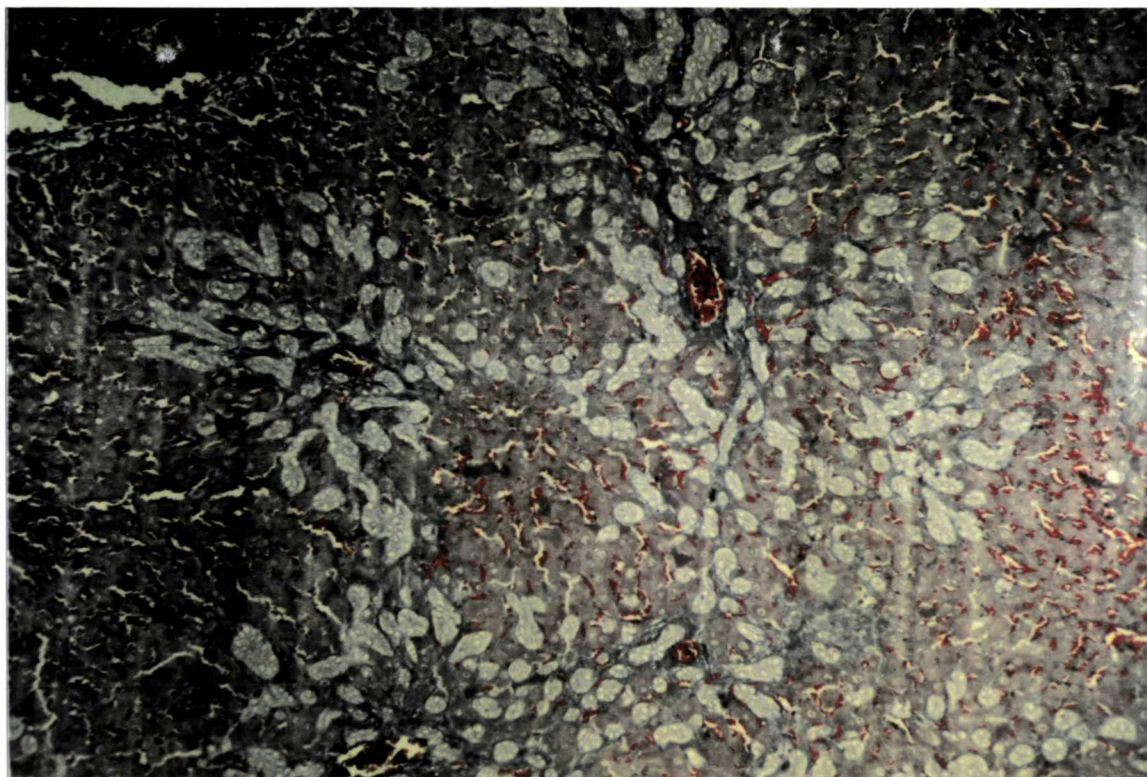


Figura 29- Alterações teciduais do fígado por obstrução biliar de 28 dias, 30 horas após injeção de bactérias. (tricrômico de Mallory- 100x). Tecido fibroso normal (em azul)

TABELA XXIII

ALTERAÇÕES DO DUCTO BILIAR COMUM

Subgrupo Ia

Rato n\	Tempo de vida (h)	Infla. Aguda	Úlcera	Gangre.	Infla. Crôni.	Abscesso
1	168	++	+	0	++	0
2	168	++	+	0	++	0
3	168	++	+	0	++	0

Legenda:

Infla. = Inflamação

Gangre. = Gangrena

Crôni. = Crônica

TABELA XXIV

ALTERAÇÕES DO DUCTO BILIAR COMUM: SUBGRUPO IB

Rato n\	Tempo de vida (h)	Infla. Aguda	Úlcera	Gangre.	Infla. Crôni.	Abscesso
1	30	+	++	0	++	0
2	36	+	++	0	++	0
3	60	++	+++	0	++	0
4	72	++	+++	0	++	0
5	72	+++	+++	0	++	0
6	72	+++	+++	0	++	0
7	90	+++	+++	0	++	++
8	96	+++	+++	0	++	0
9	120	++	++	0	++	0
10	168	++	++	0	++	0

Legenda:

Infla. = Inflamação

Gangre. = Gangrena

Crôni. = Crônica

TABELA XXV

ALTERAÇÕES DO DUCTO BILIAR COMUM: SUBGRUPO IIA

Rato n\	Tempo de vida (h)	Infla. Aguda	Úlcera	Gangre.	Infla. Crôni.	Abscesso
1	168	+	+	0	++	0
2	168	+	+	0	++	0
3	*	++	+++	+	++	0

* Óbito no 28\ dia de obstrução biliar

Legenda:

Infla. = Inflamação
Gangre. = Gangrena
Crôni. = Crônica

0 = Ausente
+ = Discreta
++ = Moderado
+++ = Acentuado

TABELA XXVI

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DO DUCTO BILIAR COMUM

Subgrupo IIb

Rato n\	Tempo de vida (h)	Infla. Aguda	Úlcera	Gangre.	Infla. Crôni.	Abscesso
1	12	++	++	0	++	0
2	12	+++	+++	0	++	0
3	24	++	++	0	++	0
4	30	++	++	0	++	0
5	72	+++	+++	+	++	+++
6	120	+++	+++	0	++	0
7	168	+++	+++	+	++	0
8	168	++	++	0	++	0

Legenda:

Infla. = Inflamação

Gangre. = Gangrena

Crôni. = Crônica

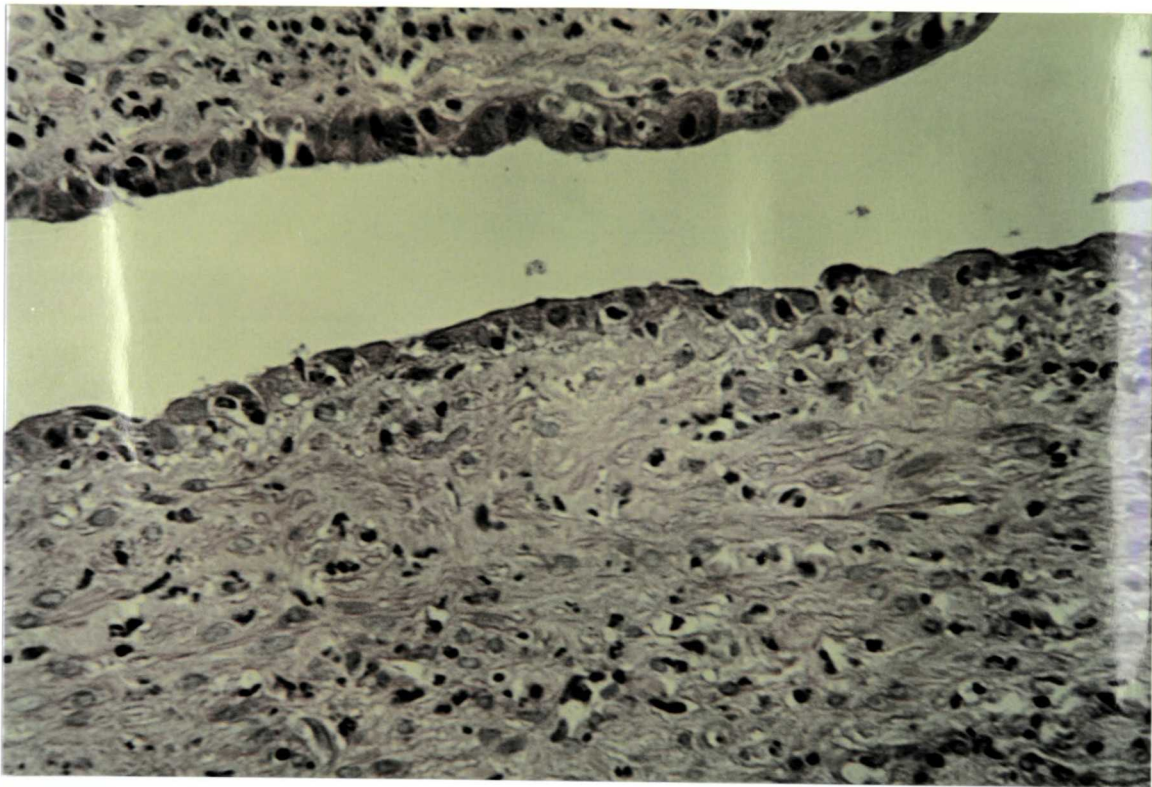


Figura 30. Alterações do ducto biliar comum por obstrução biliar de 7 dias, 168 horas após injeção de soro fisiológico. (Hematoxilina e eosina, 400x). Ducto biliar comum revestido por epitélio simples com inflamação aguda discreta.

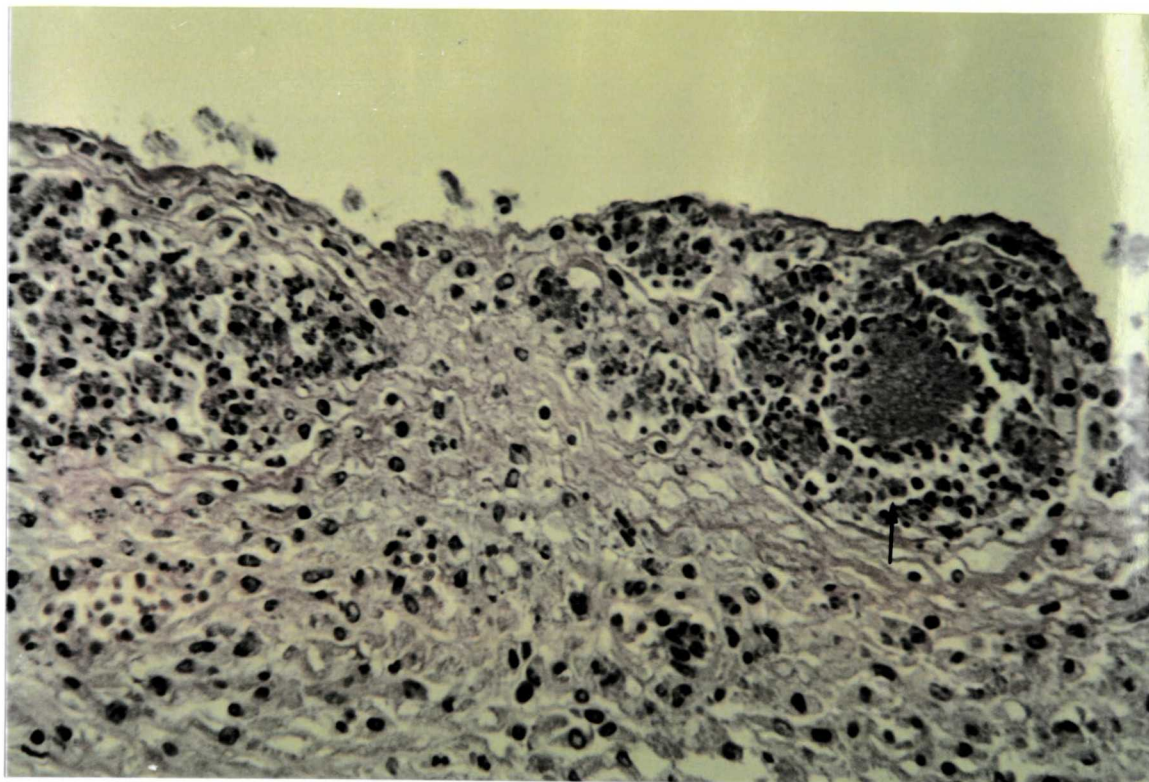


Figura 31. Alterações teciduais do ducto biliar comum por obstrução de 28 dias e 30 horas após a injeção de bactérias (Hematoxilina e eosina, 400x). Inflamação aguda ulcerada severa e microabscesso com colônias bacterianas (seta).

As tabelas em que não houve correlação com nível de significância $p < 0,05$, não são apresentadas. Aquelas com resultados significativos foram apresentadas nos resultados de microscopia.

A diferença entre a mortalidade entre os subgrupos Ib e Iib (tabela II), calculada pelo teste exato de Fisher ⁶ , foi a apresentada no resultado de evolução clínica.

5 . DISCUSSÃO

A triade de Charcot, que define o quadro clínico dos pacientes com colangite aguda, foi descrita a mais de 100 anos ¹¹. Contudo, esta doença determina ainda hoje altas taxas de mortalidade ⁴⁴. Vários fatores têm sido avaliados na tentativa de melhor compreender esta afecção ^{20,46,60}. Entre eles, as repercussões sobre o fígado, as quais parecem ser mais acentuadas nos quadros clínicos mais graves ^{7,59}. Procuramos, através deste estudo experimental, induzir colangite aguda supurativa para avaliar no rato, a mortalidade, as alterações histológicas sobre o fígado e o ducto biliar comum, bem como desenvolver este modelo para novos experimentos.

Existem poucos trabalhos experimentais de indução de colangite aguda em ratos, o que só é possível nos animais que foram submetidos à obstrução prévia da via biliar ^{12,54,62}. Nos modelos descritos por RONAI & MAGAREY ⁵⁴ e CHOU & GIBSON ¹², foi utilizada a via hematogênica para injeção de bactérias, o que determinou a morte fulminante dos animais, com 7 dias de obstrução biliar prévia. TANAKA et alli ⁶², utilizando a via intraductal, obtiveram uma alta mortalidade, que ocorreu em períodos de tempo mais longos e variados.

TANAKA et alli ⁶² no seu método, foram obrigados a realizar nova laparotomia, com o inconveniente de desfazer as aderências decorrentes da primeira operação, tanto que tiveram em seu grupo controle, 17% de óbito por hemorragia interna. Neste procedimento, também fizeram punção do ducto para a injeção de bactérias e uma sutura em bolsa para ocluir o local puncionado. Em estudos preliminares que realizamos em nosso laboratório, houve extravasamento frequente de bile pelos locais de passagem da agulha, mesmo de dimensões mínimas. No modelo utilizado, semelhante ao proposto recentemente por RAPER et alli ⁵¹, evitamos abrir novamente a cavidade peritoneal, pela colocação do cateter na primeira operação. Houve dificuldades técnicas no início, na tentativa de cateterizar o ducto biliar comum, que no rato apresenta dimensões mínimas, permitindo a penetração justa do cateter com 0,61mm de diâmetro externo. Além disso, transita numa longa extensão envolvido por tecido pancreático, e os vasos portais e hepáticos estão muito próximos, rompendo-se com facilidade quando se faz a tração do ligamento hepatoduodenal para identificar e isolar o ducto biliar. A ligadura deste foi realizada logo acima do ramo mais alto do ducto pancreático e abaixo da confluência dos ductos hepáticos, idêntico ao método de LEE ³², que desta maneira relatou não ter ocorrido escape de bile para o intestino.

CAMERON ⁹ e CAMERON & HASAN ¹⁰, encontraram no fígado de ratos com obstrução biliar de até 7 dias, uma proliferação ductal mais limitada ao espaço porta. Após 23 dias, uma grande parte do parênquima hepático havia sido substituído por tecido ductal. Neste estudo, induzimos a colangite aguda em animais com parênquima hepático praticamente conservados (grupo I - 7 dias) e também naqueles em que houve perdas de grande porção do parênquima (grupo II - 28 dias).

Em todos os estudos experimentais descritos ^{12,51,54,62,63} utilizou-se a *Escherichia coli*, como agente etiológico associado a obstrução biliar, para produzir colangite aguda. Foi utilizado neste trabalho a mesma espécie de bactéria, em alta concentração (10^8 UFC/ml), como o fizeram RAPER et alli ⁵¹ e TANAKA et alli ⁶².

Nos resultados, dois animais em cada grupo apresentaram infecção de parede no período de obstrução biliar. Estes 4 animais foram eliminados por haver pus ao redor do cateter por ocasião da segunda operação. Em 2 destes, a bile também estava infectada. A ocorrência de infecção de parede está descrita no trabalho de CAMERON ⁹, que a encontrou em alguns animais. No estudo de TANAKA et alli ⁶², não houve descrição de infecção de parede, entretanto 2 em 14 animais apresentaram a bile infectada ao final de 21 dias de obstrução biliar. É provável que, no presente estudo, a bile foi infectada por contiguidade do pus ao redor do cateter, pois verificou-se nestes 2 animais

que o ducto biliar dilatado se encontrava aderido ao peritônio no local da primeira operação, em contato com a secreção purulenta.

CAMERON⁹, relatou perfuração do ducto biliar dilatado com conseqüente coleperitonite, observando maior incidência nos primeiros 15 dias de obstrução. No presente estudo, 3 animais do grupo II morreram em peritonite, todos após 17 dias de obstrução. Um animal foi eliminado do estudo histológico e controle bacteriológico. Os 2 animais restantes, apresentavam as paredes do ducto gangrenadas e desenvolveram *Escherichia coli* na cultura da bile, porém apenas um havia recebido injeção intraductal, a qual foi de bactérias. O aumento adicional da pressão no momento em que recebeu injeção intrabiliar, não pode ser responsabilizado pela perfuração, pois sempre tomou-se o cuidado de aspirar o mesmo volume de líquido daquele que seria injetado. Este procedimento foi também realizado por TANAKA et alli⁶², com a mesma intenção. É possível que a perfuração tenha ocorrido pela ação das bactérias num tecido ductal previamente alterado e de paredes distendidas.

A resistência da parede abdominal está diminuída na icterícia obstrutiva, por uma redução dos fibroblastos e deficiência na produção de colágeno na reparação da ferida operatória. Esse fato foi demonstrado por ARNAUD et alli² e LEE³², que o verificaram na primeira semana de obstrução. Houve neste estudo um óbito por evisceração, ocorrido no décimo quarto dia após a obstrução biliar.

TRAMS & SYMEONIDIS ⁶⁷ demonstraram que após a ligadura do ducto biliar comum, ocorria a recanalização do ducto, em vários animais, entre 7 e 14 dias de obstrução. Propuseram a excisão de 8 a 10mm do ducto para prevenir este fato. Porém, em observação de HOLMBERG et alli ²⁶, em 1 de 9 animais houve recanalização do ducto, mesmo com a excisão de 6mm deste, e ocorreu 6 semanas após a obstrução. Verificaram que, com a interposição do estômago-duodeno entre as extremidades seccionadas não houve recanalização. Nos dois grupos deste estudo, este fenômeno não ocorreu. É possível que a presença do cateter no interior do ducto obstruído, assim mantido por dupla ligadura, tenha contribuído para que esta não ocorresse, já que a dilatação sacular do ducto seguia a direção do cateter rumo à incisão, mantendo ou aumentando a distância entre as porções proximal e distal do ducto ligado e seccionado.

Os animais sem complicações dos subgrupos Ia e IIa, que receberam soro fisiológico intraductal, não morreram e as culturas da bile sempre foram negativas após 7 dias da segunda operação. Por outro lado, entre os animais dos subgrupos Ib e IIb, nos quais foi injetado bactérias intraductal, a mortalidade após uma semana foi de 90% e 75% respectivamente. Entretanto, esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa. TANAKA et alli ⁶⁴, injetando 0,1 ml de suspensão de *Escherichia coli* 10⁵ UFC/ml intraductal, em animais com 3 dias, 2, 4 e 6 semanas de icterícia obstrutiva, também não encontraram diferenças

significativas entre os 4 grupos. Porém, quando agruparam os animais de 3 dias com os de 2 semanas de obstrução e compararam com os de 4 e 6 semanas, houve maior susceptibilidade nos animais com maior tempo de icterícia. Os resultados de TANAKA et alli ⁶⁴, não podem ser comparados com os do presente estudo, pois utilizaram concentrações menores de bactérias e subgrupos de diferentes tempos de obstrução biliar. A mortalidade menor (75%) encontrada no presente estudo, nos animais com obstrução biliar prévia de 28 dias, pode ser atribuída a uma diluição maior da suspensão de bactérias por uma quantidade maior de bile intraductal, presente num sistema ductal maior e mais dilatado.

Em dois animais do subgrupo II a bile era hemorrágica, tendo um deles recebido injeção de bactérias e o outro de soro fisiológico. Este achado não difere das observações de CAMERON ⁹, que a encontrou em animais com simples obstrução biliar.

Em descrições macroscópicas do fígado em ratos com obstrução biliar, CHOU & GIBSON ¹² relacionaram as granulações amareladas encontradas na superfície do fígado à necrose coagulativa. No presente estudo, estas granulações correspondiam a necrose coagulativa e também a presença de abscessos, verificados a microscopia.

As repercussões hepáticas obstrutivas encontradas no presente estudo, não diferem daquelas descritas por CAMERON ⁹ em 1932. No animal número 3 do subgrupo IIa e número 7 do subgrupo IIb, nos quais ocorreu perfuração do DBC e peritonite, a proliferação ductal foi moderada, possivelmente por diminuição da pressão intraductal.

A ocorrência de fenômenos inflamatórios inespecíficos foi constante nos subgrupos Ia e IIa (grupos controle), como encontrados por CAMERON ⁹, CAMERON & HASAN ¹⁰, CHOU & GIBSON ¹², RONAI & MAGAREY ⁵⁴ e MEDEIROS et alli ³⁵. Ocorreram, provavelmente, determinados pela agressão que a obstrução provocou sobre a árvore biliar e o fígado. A presença de exocitose de polimorfonucleares nas paredes dos ductos, que é diagnóstico de colangite aguda, também foi observada na obstrução sem bactérias. CAMERON ⁹ e RONAI ⁵⁴ descreveram a ocorrência de abscessos consequentes a obstrução, porém não houve controle bacteriológico de rotina nestes dois trabalhos. Nos animais dos subgrupos Ia e IIa, nunca ocorreu a formação de abscessos.

Após a injeção de bactérias, ocorreu nos subgrupos Ib e IIb, uma resposta inflamatória significativa com moderada correlação inversa entre as variáveis de congestão vascular, edema portal, hiperplasia das células de Kupffer e infiltrado neutrofilico polimorfonuclear em relação ao tempo de vida, ou seja, quanto mais intensos os achados inflamatórios, menor o tempo de vida. A diminuição progressiva das alterações inflamatórias intensas iniciou em

torno de 72 horas nestes dois subgrupos e após 168 horas pareciam muito semelhantes ao grupo controle. O comportamento das alterações infecciosas no subgrupo Ib, ou seja, o exsudato neutrofilico sinusoidal e o microabscesso tiveram um comportamento semelhante nas primeiras 72 horas, ocorrendo após, a formação de abscesso. Este último não apresentou correlação com o tempo de vida. Porém a formação de exsudato neutrofilico e microabscesso mostrou correlação inversa moderada neste subgrupo. No subgrupo IIb, apenas a formação de microabscessos esteve correlacionado com o tempo de vida. Assim, no presente estudo, a ocorrência de abscesso hepático só ocorreu em animais com maior tempo de vida. Nos subgrupos Ib e IIb, a formação acentuada de microabscesso parece estar correlacionada ao menor tempo de vida. Não existe na literatura, trabalhos comparativos em animais. No homem, este fato foi evidenciado recentemente por SHIMADA et alli ⁵⁹, que encontraram nos pacientes com quadro clínico grave, intenso infiltrado inflamatório sinusoidal e microabscesso. O'CONNOR et alli ⁴⁴, em biópsias de fígado humano, também encontraram, nos pacientes mais graves, a presença de microabscessos, o que representaria o estágio final da doença. Neste estudo, houve uma correlação significativa entre mortalidade e ocorrência de microabscesso nos subgrupos de colangite aguda, quer com 7 dias ou 28 dias de obstrução prévia, e parece que a gravidade foi determinada pela intensidade das lesões iniciais do tipo exudato neutrofilico sinusoidal e

microabscesso, e não pelo tempo de icterícia prévia, antes do desencadeamento da colangite supurativa. Esta correlação foi vista, na intensidade das alterações inflamatórias e infecciosas comparativas ao tempo de vida em 168 horas, após o início da colangite aguda supurativa.

A correlação estatística, pelo método de PEARSON, do tempo de vida após o início da colangite aguda e as variáveis inflamatórias e infecciosas sempre ocorreram de intensidade moderada. Estas variáveis são de caráter observacional, sem parâmetros rígidos, contudo as graduações foram realizadas com o estudo exaustivo das lâminas. Assim, mesmo que a transformação dos dados observacionais em valores ordinais deixem dúvidas, os resultados possivelmente traduzem a gravidade da doença em estudo. Novas variáveis devem ser correlacionadas, na tentativa de esclarecer melhor a patogenia e a fisiopatologia desta doença em animais de experimentação, para que se possa compreender melhor o que ocorre no homem, na intenção de diminuir a mortalidade elevada na colangite aguda supurativa.

6 - CONCLUSÕES

1. O modelo experimental utilizado foi eficiente na produção de colangite aguda, nos ratos que receberam injeção intraductal de bactérias.

2. A concentração de *Escherichia coli* 10^5 UFC/ml, injetada no ducto biliar comum após obstrução prévia de 7 ou 28 dias, produziu colangite aguda em todos animais.

3. A mortalidade após a produção da colangite aguda, não mostrou diferença significativa para $p < 0,05$, entre os animais com obstrução biliar prévia de 7 ou 28 dias.

4. Houve uma correlação inversa moderada pelo teste de PEARSON, entre o tempo de vida após injeção de bactérias intraductal e as variáveis inflamatórias de congestão ou dilatação vascular, edema portal, infiltrado inflamatório polimorfonuclear e a hiperplasia das células de Kupffer, independente do tempo de obstrução biliar prévia de 7 ou 28 dias.

5. Houve uma correlação inversa moderada pelo teste de PEARSON, entre o tempo de vida após injeção de bactérias intraductal e a variável de microabscesso, independente do tempo de obstrução biliar prévia de 7 ou 28 dias.

6. As alterações teciduais no fígado, após a produção da colangite aguda, foram semelhantes entre os animais com obstrução biliar prévia de 7 ou 28 dias, o que sugere ser suficiente um período de 7 dias de obstrução biliar para a produção experimental de colangite aguda.

7 - SUMMARY

In this research, a study was carried out about an experimental pattern produce on acute cholangitis in effect of biliar obstruction. 32 Wistar rats grow-up rats were utilized and they were divided in group I (7 days with biliar obstruction). Each group was subdivided in 2 subgroups. All the animals suffered two surgeries. In the first operation ligation and catheterization. Was achieved of the proximal extremity in the biliary duct with a polyethylene tube PE-10, wich was occluded and put off under the skin. In the second operation, the animals with complication were excluded in the period of biliary obstruction, the catheter was restored from the group I animal's subcutaneous cellular tissue after 7 days and from group II, after 28 days. Subsequently, it was made the bile crop for culture and, with a catheter, injectes a sterile solution of sodium chloride 0,9% in the subgroups Ia and IIa (controls) and *Escherichia coli* 10^8 UFC/ml suspension in the subgroups Ib and IIb. After 168 hours in an observation period decurrent from this second operation, the animals wich didn't die were sacrificed. In the sacrifice or death, the bile was caught to culture, the liver and common biliar duct were taken off to histopathologic test. There was not mortality in the subgroups Ia and IIa, and all the bile cultures were negative. In the subgroups Ib and IIb, the

bile cultures were negative on the occasion of second operation. The mortality after the intraductile bacterium injection was 90% to subgroup Ib, with 7 days of previous biliar obstruction, and 75% to subgroup IIb, with 28 days of biliar obstruction. This difference was not statistically expressive. All the animals, after the bacterium injection, except two, in wich the bile was hemorrhagic, they brought out purulent bile. On all, the bile culture developed *Escherichia coli*. The microscopic findings indicated a moderate inverse correlation between time life after the bacterium injection and the inflamatories variable in the subgroups Ib and IIb. The same was found in the variable on microabscesses. The intensities of correlate microscopics alterations were obtained by observable datas. The results suggest the utilized pattern reached the objective to produce acute cholangitis, the more intense microscopic alterations by microabscesses type on liver occured in the animals which lived for less time. And the previous biliar obstruction period, with 7 or 28 days, didn't interfere in the mortality.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLISON, N.E.M; PREINTICE, C.R.M; KENNEDY, A.C;
BLUMGART, L.H. Renal function and other factors in
obstructive jaundice. Br. J. Surg., 66:392-0, 1979.
2. ARNAUD, J.P; HUMBERT, W; ELOY, M.R; ADLOFF, M. Effect
of obstructive jaundice on wound healing. Am. J.
Surg., 141:593-6, 1981.
3. BAILEY, M.E. Endotoxin, bile salts and renal fuction in
obstructive jaundice. Br. J. Surg., 63:774-8, 1986.
4. BOCKMAN, D.E. Route of flow and micropathology
resulting from retrograde intrabiliary injection of
india ink and ferritin in experimental animals.
Gastroenterology 67:324-32, 1974.
5. BOEY, J.H & WAY, L.W. Acute cholangitis. Ann. Surg.,
191:264-70, 1980.
6. BROWN J.R., BW. Statistics a biomedical introduction.
John Wiley & Sons. N.York, 1977

7. BURDILES, P; CSENDES, A; DIAZ, J.C; SMOK,G; BASTIAS, J; PALOMINO, G; BRAGHETTO, I; MALUENDA, F. Histological analysis of liver parenchyma and choledochal wall, and external diameter and intraluminal pressure of the common bile duct in controls and patients with common bile duct stones with and without acute suppurative cholangitis. *Hepato-gastroenterol*, 36:143-6, 1989.
8. CAHILL, C.J; PAIN, J.A; BAILEY, M.E. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. *Surg .Gynecol. Obstet.*, 165:519-22, 1987.
9. CAMERON, G.R & OAKLEY, C.L. Ligation of the common bile duct. *J. Path.Bact.*, 35:769-98, 1932.
10. CAMERON, G.R & HASAN, S.M. Disturbances of structure and function in the liver as the result of biliary obstruction. *J.Path.Bact.*, 75:333-49, 1958.
11. CHARCOT, J.M. Leçons sur les maladies du foie des voies filiales et des reins. Paris: Faculté de Médecine de Paris, 1877, citado por DOW et alli 22 .
12. CHOU, S.T & GIBSON ,J.B. Experimental cholangitis and cholelithiasis. *Br.J.Exp Pathol.*, 49:565-73, 1968.

13. COLLIER, J; PAIN, J.A; WIGHT, D.G.D; LOVAT, P; BAILEY, M.E. The Kupffer cell in experimental extrahepatic cholestasis in the rat - a light microscopy, immunohistochemical and electron microscopy study. *J. Pathol.*, 150:187-94, 1986.
14. CSENDES, A; SEPÜVEDA, A; BURDILES, P; BRAGHETTO, I; BASTIAS, J; SCHUTTE, H; DIAZ, J; YARMUCH, J; MALUENDA, F. Common bile duct pressure in patients with common bile duct stones with or without acute suppurative cholangitis. *Arch.Surg.*, 123:697-9, 1988.
15. DINEEN, P. The importance of the route of infection in experimental biliary tract obstruction. *Surg.Gynecol.Obstet.*, 119:1001-8, 1964.
16. DIXON, J.M; ARMSTRONG, C.P; DUFFY, S.W; ELTON, R.A; DAVIES, G.C. Upper gastrointestinal bleeding. A significant complication after surgery for relief of obstructive jaundice. *Ann.Surg.*, 199:271-5, 1984.
17. DOOLEY, J.S; HAMILTON-MILLER, J.M.T; BRUMFITT, W; SHERLOCK, S. Antibiotics in the treatment of biliary infection. *Gut.*, 25:988-98, 1984.
18. DOW, R.W & LINDENAUER, S.M. Acute obstructive suppurative cholangitis. *Ann.Surg.*, 169:272-6, 1989.

19. DRIVAS, G; JAMES, O; WARDLE, N. Study of reticuloendothelial phagocytic capacity in patients with cholestasis. *Br. Med. J.*, 1:1568-9, 1976.
20. GIGOT, J.F; LEESE, T; DEREME, T; COUTINHO, J; CASTAING, D; BISMUTH, H. Acute cholangitis. Multivariate analysis of risk factors. *Ann.Surg.*, 209:435-8, 1989.
21. GLENN, F & Moody, F.G. Acute obstructive suppurative cholangitis. *Surg.Gynecol.Obstet.*, 113:265-73, 1961.
22. HAMPTON, J.C. Electron microscopic study of extrahepatic biliary obstruction in the mouse. *Lab.Invest.*, 10:502-13, 1961.
23. HAUPERT, A.P; CAREY, L.C; EVANS, W.E; ELISSON, E.H. Acute suppurative cholangitis. *Arch. Surg.*, 94:460-8, 1967.
24. HINCHEY, E.J & COUPER, C.E. Acute obstructive suppurative cholangitis. *Am. J. Surg.*, 117:62-8, 1969
25. HINSHAW, D.B. Acute obstructive suppurative cholangitis. *Surg. Clin. North Am.*, 58:1080-94, 1973.

26. HOLMBERG, J.T; HEDERSTRON, E; IHSE, I. A method to prevent recanalization of the transected bile duct in rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 20:428-32, 1985
27. HUNT, D.R; ALLISSON, N.E.M; PRENTICE, C.R.M; BLUMGART L.H. Endotoxemia, disturbance of coagulation and obstructive jaundice. *Am. J. Surg.*, 144:325-9, 1982.
28. JACKAMAN, F.R; HILSON, G.R.F; MARLOW, L.S. Bile bacteria in patients with benign bile duct stricture. *Br. J. Surg.*, 67:329-32, 1980.
29. JACOBSSON, B; KJELANDER, J; ROSENGREN, B. Cholangiovenous reflux. An experimental study. *Acta Chir Scand.*, 123:316-21, 1962.
30. KATZ, S; GROSFELD, J.L; GROSS, K; PLAGER, D.A; ROSS, D; ROSENTHAL, R.S; HULL, M; WEBER, T.R. Impaired bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. *Ann. Surg.*, 199:14-20, 1984.
31. KOSOWSKI, K; KARCZEWSKA, E; KASPROWICZ, A; ANDZIAK, J; HECZKO, P.B. Bacteria in bile of patients with bile duct inflammation. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 6:575-8, 1987.

32. LEE, E. The effect of obstructive jaundice on the migration of reticulo-endothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. *Br. J. Surg.*, 59:875-7, 1972.
33. LENNETTE, E.H; BALOWS, A; HAUSLER, W.J; TRUANT, J.P. *Manual of clinical microbiology*. Washington DC. 3rd edition. 1985, 1260p
34. LU-JIA ,X; QI-FANG, P; XIAN-QIN, M; XIAN-YING, Y; XUN-KUN, G; SHU-JUN, G. Animal model of suppurative cholangitis and bilirubin cholangiolithiasis. *Chin. Med. J.*, 99:51-8, 1986.
35. LYGIDAKIS, N.J. Acute suppurative cholangitis: comparision of internal and external biliary drainage. *Am. J. Surg.*, 143:304-6, 1982.
36. LYGIDAKIS, N.J & BRUMMELKAMP, W.H. The significance of intrabiliary pressure in acute cholangitis. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 161:465-9, 1985.
37. MALUENDA, F; Csendes, A; Burdiles, P; Diaz,J. Bacteriological study of choledochal bile in patients with commom bile duct stones, with or without acute suppurative cholangitis. *Hepato-gastroenterol.*, 36:132-5, 1989.

38. MEDEIROS, M.V.M.J; FREITAS, L.A.R; ANDRADE, Z.A.
Differences in hepatic pathology resulting from bile duct obstruction in young and old rats. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 21:75-83, 1988.
39. METZ, J; A.O.K.I, A; MERLO, M; FORSSMANN, W.G.
Morphological alterations and functional changes of interhepatocellular junctions induced by bile duct ligation. *Cell. Tiss. Res.*, 182:299-310. 1977.
40. MULLER, E.L; PITT, H.A; THOMPSON, J.E; DOTY, J.E; MANN, L.L; MANCHESTER, B. Antibiotics in infections of the biliary tract. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 165:285-92, 1987.
41. NEMCHAUSKY, B.A; LAYDEN, T.J; BOYER, J.L. Effects of chronic choluretic infusions of bile acids on the membrane of the bile canaliculus. A biochemical and morphologic study. *Lab. Invest.*, 36:259-67, 1977.
42. NICHUURA, S; KOGA, A; YANAGISAYA, J. Effects of bile duct obstruction and decompression on hepatic microsomal mixed function oxidase system in rat. *Exp. Mol. Pathol.*, 49:62-74, 1988.

49. PITT, H.A; POSTIER, R.G; CAMERON, J.L. Biliary bacteria. Significance and alterations after antibiotic therapy. *Arch. Surg.*, 117:445-9, 1982.
50. PITT, H.A; POSTIER, R.G; CAMERON, J.L. Consequences of preoperative cholangitis and its treatment on the outcome of operation for choledocholithiasis. *Surgery.*, 94:447-52, 1983.
51. RAPER, S.E; BARKER, M.E; JONES, A.L; WAY, L.W. Anatomic correlates of bacterial cholangiovenous reflux. *Surgery.*, 105:352-9, 1989.
52. REYNOLDS, B.M & DARGAL, E.L. Acute obstructive cholangitis. *Ann. Surg.*, 150:299-303, 1959.
53. ROGERS, L. Biliary abscesses of the liver with operation. *Brit. H. J.*, 2:706, 1903. Citado por Glenn et alli (26).
54. RONAI, P.M; & MAGAREY, F.R. Experimental cholangitis following biliary obstruction. *Australasian Ann. Med.*, 9:289-94, 1960.

55. ROUGHNEEN, P.T; KUMAR, S.C; PELLIS, N.R; ROWLANDS, B.J.
Endotoxemia and cholestasis. *Surg. Gynecol. Obstet.*,
167:205-10, 1988.
56. SAHARIA, P.C & CAMERON, J.L. Clinical management of
acute cholangitis. *Surg. Gynecol.Obstet.*, 142:369-72,
1976.
57. SAIK, R.P; GREENBURG, A.G; FARRIS, J.N; PESKIN, G.W.
Spectrum of cholangitis. *Am. J. Surg.*, 130:143-50,
1975.
58. SCHAFFNER, F; BACCHIN, P.G; HUTTERER, F; SCHARNBECK,
H.H; SARKOZI, L.L; DENK, H; POPPER, H. Mechanism of
cholestasis: 4. Structural and biochemical changes in
the liver and serum in rats after bile duct ligation.
Gastroenterology., 60:888-97, 1981.
59. SHIMADA, H; NIHMOTO, S; MATSUBA, A; NAKAGAWARA, G.
Acute cholangitis: a histopathologic study. *J. Clin.
Gastroenterol.*, 10:197-200, 1988.
60. SIEGMAN-IGRA, Y; SCHWARTS, D; KONFORTI, N; PERLUK, C;
ROZIN, R.R. Septicemia from biliary tract infection.
Arch. Surg., 123:366-8, 1988.

61. SO, S.U & BONDAR, G.F. Effect of transient biliary obstruction on liver function and morphology. *Can. J. Surg.*, 17:49-58, 1974.
62. TANAKA, N; CHRISTENSEN, P; RYDEN, S; STHAL, B.K; BENGMARK, S. A rat model for sepsis in chronic biliary obstruction. *Acta. Path. Microbiol. Immunol. Scand.*, 93:171-4, 1985.
63. TANAKA, N; RYDEN, S; BERGQVIST, L; CHRISTENSEN, P; BENGMARK, S. Reticulo-endothelial function in rats with obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, 72:946-9, 1985.
64. TANAKA, N; CHRISTENSEN, P; RYDEN, S; KLOFVER-STHAL, B; BENGMARK, S. Biliary obstruction and susceptibility to biliary sepsis in rats. *Res. Exp. Med.* 185:115-9, 1985.
65. THOMPSON, J.E; TOMPKINS, R.K; LONGMIRE, W.P. Factors in management of acute cholangitis. *Ann. Surg.*, 195:137-45, 1982.
66. TOYOTA, N; MIYAI, K; HARDISON, W.G.M. Effects of biliary pressure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular tight junction., *Lab. Invest.*, 50:536-42, 1984

67. TRAMS, E.G & SYMEONIDIS, A. Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of the common bile duct., *Am. J. Pathol.*, 33:13-27, 1957
68. UTILI, R; ABERNATHY, C.O; ZIMMERMAN, H.J. Cholestatics effects of *Escherichia coli* endotoxin. Endotoxin on the isolated perfused rat liver., *Gastroenterology* 70:248-53, 1976.
69. WAIT, R.B & KAHNG, K.U. Renal failure complicating obstructive jaundice., *Am. J. Surg.* 157:256-63, 1989
70. WELCH, J.P & DONALDSON, G.A. The urgency of diagnosis and surgical treatment of acute suppurative cholangitis. *Am. J. Surg.*, 131:527-32, 1976