

# COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO

## PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

### Translocación Bacteriana en trauma abdominal e infección posoperatoria

Dr. Ernesto Nieves Pinzón

Dr. Andrés Isaza

Dr. Arley Gómez

Departamento de Cirugía

Bogotá, Enero 31 de 2010

**UNIVERSIDAD**

Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario

**FACULTAD**

Medicina

**DEPARTAMENTO**

Ciencias Quirúrgicas y Ciencias Básicas

**TITULO**

“Translocación Bacteriana en trauma abdominal e infección posoperatoria”

**GRUPO DE INVESTIGACION CLÍNICA**

Línea de evaluación de intervenciones y tecnología en salud

Línea de Genotipificación microbiana

**INSTITUCION**

Hospital Occidente de Kennedy

**TIPO DE INVESTIGACION**

Trabajo de postgrado-articulo-

Estudio Clínico y Básico

**INVESTIGADORES**

Dr. Ernesto Nieves Pinzón

Dr. Andrés Isaza

Dr. Arley Gómez

**ASESOR CLINICO**

Andrés Isaza Restrepo

**ASESOR METODOLÓGICO Y ESTADÍSTICO**

Dr. Johnny Beltrán

**“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.**

## **Translocación Bacteriana en trauma abdominal e infección posoperatoria**

**Antecedentes:** La Translocación Bacteriana (TB) describe el paso de bacterias residentes en el tracto gastrointestinal a tejidos normalmente estériles como los ganglios linfáticos mesentéricos (GLMs) y a otros órganos internos. Hasta el momento no ha sido demostrada la asociación de infección posoperatoria y TB en pacientes con trauma.

**Métodos:** Para detectar la TB se extrajeron y cultivaron GLMs de 36 pacientes llevados a laparotomía por trauma. Se registraron y documentaron las complicaciones infecciosas posoperatorias. Se definió como infección posoperatoria cualquier cultivo positivo en el periodo posoperatorio. Por medio de un análisis de regresión logística multivariado se establecieron asociaciones entre las variables clínicas preoperatorias, operatorias y la infección posoperatoria. Se realizó genotipificación de los gérmenes que coincidían en el análisis microbiológico entre los hallados en los GLM y los focos infecciosos PO.

**Resultados:** Se detectó TB en 33.3% (n=12) de los pacientes. Se presentaron complicaciones infecciosas en el 22.2% (n=8) de los pacientes. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $P=0.047$ ) entre los pacientes con evidencia de TB y el desarrollo de infección en el posoperatorio (41.6%; 5/8), comparada con los pacientes sin evidencia de TB y desarrollo de infección posoperatoria (12.5%; 3/24). El germen responsable de la infección clínica coincidió con el cultivado en el GLM en el 40% de los casos (n=2/5). Cuando realizamos genotipificación de dos gérmenes aislados en un GLM y sitio de infección coincidió un microorganismo en la secuenciación, estableciendo relación de causalidad a nivel molecular.

**Conclusiones:** La TB se asocia con un incremento significativo de aparición de infección posoperatoria en pacientes sometidos a laparotomía por trauma abdominal. Se demostró relación de causalidad a nivel molecular entre organismo identificado en GLM y el encontrado en sitio de infección posoperatorio

**Keywords:** Bacterial translocation, injury, trauma, sepsis, mesenteric lymph nodes.

## Introducción

La TB es definida como el paso de microflora gastrointestinal a través de la lamina propia de la pared intestinal hacia los ganglios linfáticos mesentéricos (GLMs) locales y de allí a otras localizaciones extra-ganglionares. Estudios en modelos animales sustentan que el intestino es foco de origen de complicaciones sépticas y que la translocación bacteriana puede ser un importante mecanismo intermediario en el desarrollo de sepsis (1,2).

La TB ha sido descrita en una variedad de pacientes en cirugía electiva, en donantes de órganos, en casos de obstrucción intestinal, en pacientes con cáncer colorrectal, en pancreatitis, y en trauma. Se ha encontrado una prevalencia del 14% en casos de cirugía electiva (8). También se han descrito factores que predisponen al desarrollo de la TB, como el shock con reducción del flujo esplácnico, la nutrición parenteral, el daño del epitelio intestinal, y la presencia de ictericia entre otros (3-8). Sin embargo, la demostración de la asociación entre los microorganismos entéricos, la TB y las complicaciones sépticas no ha sido plenamente establecida, y su significancia clínica permanece incierta.

Las investigaciones mencionadas sugieren que la TB podría tener un papel importante en el desarrollo de infecciones posoperatorias en los pacientes que han sufrido algún tipo de trauma abdominal. El objetivo de este estudio fue investigar la presencia de TB en pacientes sometidos a laparotomía por trauma abdominal y explorar su significado en el desarrollo de complicaciones infecciosas posoperatorias.

### **Pacientes y Métodos**

Se realizó un estudio prospectivo para determinar la presencia de TB y su asociación con la infección posoperatoria en pacientes con trauma abdominal que requirieron tratamiento quirúrgico en el Hospital Occidente de Kennedy (HOK), institución de referencia para trauma en la ciudad de Bogotá (Colombia) durante los meses de julio a octubre de 2009.

Para el diagnóstico de la TB se obtuvieron ganglios linfáticos mesentéricos y muestras de serosa para cultivo, método estandarizado en estudios previos (8-10). Al finalizar el procedimiento quirúrgico y después de que la cavidad abdominal estuviera macroscópicamente limpia, se obtuvo un ganglio linfático mesentérico del íleon terminal, usando una hoja de bisturí estéril nueva y se tomó una muestra para cultivo de la serosa en el mismo sitio de la extracción del GLM con hisopo estéril (Culturette, BBL CultureSwab Plus™®) como control de una posible contaminación. Las muestras obtenidas se transportaron en contenedores estériles con solución salina normal.

La muestra del GLM se homogenizó en cabina de flujo laminar tipo II mediante macerado en mortero estéril, utilizando solución salina como diluyente y posterior siembra en medios enriquecidos de agar sangre de cordero; selectivos diferenciales (McConkey); caldo infusión cerebro corazón (BHI), y en medios para aislamiento de microorganismos

anaerobios tipo agar sangre anaerobio y fenil-etil-alcohol con incubación durante 48 horas en CO<sub>2</sub> al 5-10 % y atmósfera anaeróbica a 37 °C por cinco días.

Los microorganismos observados en los cultivos de raspado de serosa y de GLM se identificaron por la morfología microscópica, las características morfológicas de las colonias, y las pruebas bioquímicas automatizadas (Microscan WALK AWAY®) para Gram positivos, Gram negativos y levaduras.

Los microorganismos que coincidieron fenotípicamente, se les realizó genotipificación mediante la obtención del ADN genómico y amplificación por PCR con enzima de alta fidelidad *Pfx* de cinco genes Housekeeping: *rpoB* (RNA polimerasa, subunidad B), *gyrA* (DNA girasa subunidad A), *gapA* (gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa A), *gyrB* (DNA girasa subunidad B), y *ompA* (Proteína externa de membrana A). Cada reacción contenía 10x Buffer de Amplificación (Invitrogen); 50 nM MgSO<sub>4</sub>; 10 nM de mezcla de dNTP, 10 uM de cada primer, 0.4-1 uL DNA polimerasa Platinum *Pfx*, y 10-40 ng del DNA en un volumen final de 25 uL. Se usaron las siguientes condiciones de temperatura: un ciclo de 3 minutos a 95°C; 35 ciclos con temperaturas de 58°C por 1 minuto, 72°C por minuto y medio, 95°C por un minuto, finalmente un ciclo con dos temperaturas a 58°C por un minuto, seguido de una extensión final por 5 minutos a 72°C. Los productos de PCR fueron purificados usando el Kit Wizard PCR preps (Promega), según instrucciones del fabricante. Finalmente se enviaron a secuenciar en ambas direcciones utilizando el set de primer para cada gen con las condiciones del sistema BigDye Terminator (MACROGEN, Seoul, South Korea). Las secuencias fueron ensambladas con el software CLC DNA workbench 5 (CLC bio, Cambridge, MA, USA). Se realizaron alineamiento para cada uno de los cinco genes con el fin de comparar las secuencias provenientes de la translocación (ganglio), con las de

la infección posoperatoria, utilizando el software Clustal W software (Thompson et al, 1994) y ediciones menores se llevaron a cabo utilizando el software GeneDoc (Nicholas, 1997). Para estos ensayos se tomó como control una cepa de *E. coli* ATCC, enviándose a secuenciar dos productos de PCR independientes a partir de la misma cepa.

La evolución posoperatoria de todos los pacientes fue monitoreada hasta el momento de su egreso hospitalario o la muerte. Se obtuvieron cultivos de orina, de secreciones, y hemocultivos cuando las manifestaciones clínicas lo ameritaron. Todas las secreciones de las heridas fueron cultivadas y se obtuvieron muestras de todas las colecciones identificadas en re-intervenciones o drenadas por radiología intervencionista en su evolución posoperatoria.

Se excluyeron del estudio los pacientes que hubieran recibido antibióticos en las dos semanas previas a la cirugía, aquellos que por la gravedad de su compromiso clínico no permitieran la recolección del ganglio, aquellos en los que no fuera técnicamente posible la obtención de la muestra y los que fallecieron en salas de cirugía.

El análisis estadístico fue realizado usando SPSS® para Windows versión 15 (SPSS, Busines Analytics and Process Optimization. IBM). La asociación se estableció por medio del Chi-cuadrado de Pearson. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ . Dados los resultados de la fase analítica del estudio se decidió evaluar el comportamiento del cultivo del ganglio como prueba diagnóstica.

## **Resultados**

El estudio incluyó treinta y seis pacientes. La edad promedio fue de 26 años (Rango: 13 – 82); 35 pacientes fueron hombres. Consultaron por trauma abdominal 36.1% (13/36) y por trauma toracoabdominal 63.9 % (23/36). De ellos, 35 fueron traumas penetrantes (9 por proyectiles de armas de fuego; 26 por armas cortopunzantes) y un traumatismo cerrado.

Se obtuvieron cultivos positivos de los GLMs en el 33.3% (12/36) de los pacientes. El cultivo de serosa para detectar contaminación del ganglio mesentérico fue positivo en 4 de 36 pacientes; en dos de estos los ganglios fueron estériles, en otro creció un germen diferente al aislado en el GLM y en el restante se aisló el mismo microorganismo en el GLM y en la serosa. En este último paciente no se encontraron lesiones de órganos intra-abdominales ni contaminación de la cavidad durante la laparotomía. En la Tabla 1 se muestra el espectro de microorganismos aislados en las diferentes muestras y en los focos infecciosos posoperatorios.

Tabla 1 Gérmenes aislados en los cultivos positivos de los diferentes sitios de muestras

	Ganglio Linfático	Serosa	Foco Infeccioso
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3(17.6)	2(50)	2(14.2)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1(5.8)		1(7.1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1(5.8)		2(14.2)
<i>Escherichia coli</i>	4(23.5)		2(14.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2(11.7)		1(7.1)
<i>Streptococcus viridans</i>	1(5.8)		1(7.1)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1(5.8)		
<i>Streptococcus mitis</i>	1(5.8)		
<i>Salmonella spp</i>	1(5.8)		
<i>Streptococcus salivarius</i>	1(5.8)		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1(5.8)		
<i>Staphylococcus hominis</i>		1(25)	
<i>Moraxella spp</i>		1(25)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			1(7.1)
<i>Serratia marcescens</i>			1(7.1)
<i>Streptococcus anginosus</i>			1(7.1)
<i>Candida spp</i>			1(7.1)
<i>Acinetobacter luoffi</i>			1(7.1)
Total	17	4	14

Durante el seguimiento posoperatorio de los pacientes se detectaron 14 eventos sépticos en 8 pacientes. En la Tabla 2 se relacionan las infecciones posoperatorias en los pacientes con y sin TB.

Tabla 2 Complicaciones sépticas postoperatorias en pacientes con y sin translocación bacteriana

	<b>Pacientes con translocación bacteriana (n=12)</b>	<b>Pacientes sin translocación bacteriana (n=24)</b>	<b>Total (n=36)</b>
Sepsis Intraabdominal	3	1	4
Infección de la Herida	5	2	7
Infección Respiratoria	2	0	2
Infección Piel	0	1	1
Total N° Eventos sépticos	10	4	14
Total N° de Pacientes*	5(41.6%)	3(12.5%)	8(22.2%)

*\*4 pacientes presentaron dos eventos sépticos c/u y 2 pacientes presentaron tres eventos sépticos.*

En la tabla 3 se resumen las variables independientes que podrían estar asociadas con el desarrollo de translocación bacteriana, en la cual se observa una asociación significativa ( $p=0.018$ ) con un Índice de Trauma Abdominal (ATI)  $\geq 10$  (9).

Tabla 3. Análisis univariado de los factores asociados con Translocación Bacteriana

	Nº de pacientes	Sin Translocación Bacteriana	Translocación Bacteriana	Univariado <i>P</i>
Pacientes	36	24(66.7)	12(33.3)	
TA Urgencias				
< 90 mmHg	5	3(60)	2(40)	0.733
Órgano Lesionado				
Sólido	18	12(66.7)	6(33.3)	1.000
Víscera Hueca	15	9(60)	6(40)	0.473
Vascular	6	5(83.4)	1(16.6)	0.343
Sangrado ≥ 500 cc	22	14(63.7)	8(36.3)	0.629
Sangrado ≥1000 cc	18	13(72.2)	5(27.8)	0.480
Sangrado ≥ 1500 cc	8	5(62.5)	3(37.5)	0.777
Tiempo Cirugía ≥120 min	18	11(61.2)	7(38.8)	0.480
ATI ≥10	17	8(47,1)	9(52.9)	<u>0.018</u>
Uso de antibiótico Urgencias o quirófano	17	13(76.5)	4(23.5)	0.238
Valores en paréntesis son porcentajes				

En la tabla 4 se presentan las variables independientes que pueden asociarse con el desarrollo de infección en el posoperatorio. Se observa una asociación significativa entre infección PO y: sangrado intraoperatorio mayor de 1500cc; requerimiento de UCI en el PO; y la presencia de TB.

Tabla 4. Análisis univariado de las variables asociadas con infección en el posoperatorio.

	N° de pacientes	Sin Infección Posoperatoria	Infección Posoperatoria	Univariado <i>P</i>
Pacientes	36	24(66.7)	12(33.3)	
TA Urgencias				
< 90 mmHg	5	4(80)	1(40)	0.898
Órgano Lesionado				
Sólido	18	14( 77.8 )	4(22.2)	1.000
Viscera Hueca	15	10( 66.7 )	5( 33.3 )	0.175
Vascular	6	6(100)	0(0)	0.151
Sangrado ≥ 500 cc	22	16(72.8 )	6(27.2 )	0.361
Sangrado >1000 cc	18	12(66.7)	6(33.3)	0.109
Sangrado > 1500 cc	8	4(50)	4(50)	<u>0.032</u>
Tiempo Cirugía>120 min	18	12(66.7)	6(33.3)	0.480
ATI ≥10	17	11( 64.7)	6( 35.3)	0.074
No Uso de antibiótico Urgencias o quirófano	19	14(73.6 )	5(26.4 )	0.532
UCI posoperatorio	5	2(40)	3(60)	<u>0.029</u>
Translocación Bacteriana	12	7(58.3)	5(41.7)	<u>0.047</u>
Valores en paréntesis son porcentajes				

Se analizó el GLM para determinar su utilidad como prueba diagnóstica de infección PO.

Se determinó que tiene una sensibilidad de 62,5%, una especificidad de 75%, un LR (likelihood ratio) positivo de 2.5 (IC 95% 1.08-5.77) y un LR negativo de 0.5 (IC 95% 0.2-1.25).

Habiendo demostrado asociación y habiendo demostrado la utilidad diagnóstica de la prueba, se complementaron mediante pruebas de concordancia empleando kappas para determinar si la especie bacteriana positiva en el cultivo del ganglio coincidía con la especie bacteriana positiva en la infección diagnosticada en el PO (Tabla 5).

Tabla 5. Prueba de concordancia entre el microorganismo causante de TB y la infección PO.

	Ganglio Linfático	Serosa	Foco Infeccioso	Kappa	<i>P</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3(17.6)	2(50)	2(14.2)	-0.071	0.661
<i>Enterobacter cloacae</i>	1(5.8)		1(7.1)	-0.029	0.864
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1(5.8)		2(14.2)	0.654	<u>0.000</u>
<i>Escherichia coli</i>	4(23.5)		2(14.2)	0.640	<u>0.000</u>
<i>Staphylococcus aureus</i>	2(11.7)		1(7.1)	-0.059	0.724
<i>Streptococcus viridans</i>	1(5.8)				
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1(5.8)				
<i>Streptococcus mitis</i>	1(5.8)				
<i>Salmonella spp</i>	1(5.8)				
<i>Streptococcus salivarius</i>	1(5.8)		1(7.1)	-0.059	0.864
<i>Enterococcus faecalis</i>	1(5.8)				
<i>Staphylococcus hominis</i>		1(25)			
<i>Moraxella spp</i>		1(25)			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			1(7.1)		
<i>Serratia marcescens</i>			1(7.1)		
<i>Streptococcus anginosus</i>			1(7.1)		
<i>Candida spp</i>			1(7.1)		
<i>Acinetobacter luoffi</i>			1(7.1)		
Total	17	4	14		

Para confirmar asociación de causalidad a nivel molecular entre los microorganismos aislados de los GLMs y los obtenidos en los focos de infección posoperatoria se realizó genotipificación a dos cepas aisladas del GLM las cuales fueron fenotípicamente iguales a las encontradas en infección posoperatoria, correspondientes a cepas de *E. coli* de secreción de herida quirúrgica y *K. pneumoniae* obtenida de una colección intraabdominal; Para la *E. coli* se encontró similitud y ensamble de las secuencias para los cinco genes, sin cambios de nucleótidos, lo cual indica que la cepa aislada en el GLM es la causante de la infección PO; Sin embargo para la *K. Pneumoniae* se encontró un cambio de nucleótido para el gen *rpoB* y dos cambios para el gen de *gyrA*, encontrándose la presencia de dos alelos distintos para este gen.

## **Discusión**

Ya desde finales del siglo XIX dos investigadores por separado sostuvieron la hipótesis que las bacterias de la luz intestinal podrían atravesar el epitelio intestinal y ser las causantes del desarrollo de la peritonitis (10-11), desde entonces, y sustentada por evidencia cada vez más contundente, se ha propuesto la teoría de la TB, como eje del desarrollo de infección, sepsis, falla multiorganica sistémica que ocurre cuando los mecanismos de control de la barrera intestinal se rompen. Entendiéndose el intestino como un órgano que cumple importantes funciones metabólicas e inmunológicas, más que la simple concepción de digestión y excreción.

Diversos tipos de estudios se han diseñado para demostrar esta teoría, en 1949 se obtiene mediante modelos experimentales en perros sometidos a choque hemorrágico bacterias en liquido peritoneal que al ser comparadas con las encontradas en la microflora intestinal eran

idénticas (12). En 1979, Berg y Garlington definieron este fenómeno de paso de bacterias de la luz intestinal a otros órganos como Translocación Bacteriana (13). Concepto que posteriormente fue ampliado para hacer referencia al paso partículas inertes, otras macromoléculas y endotoxinas desde la luz intestinal hacia los ganglios linfáticos mesentéricos (GLM) y otros órganos sin que exista una solución de continuidad de la pared del tubo digestivo (14-17). Estudios en modelos animales sometidos a estrés y por medio de microfotografía electrónica han podido documentar como ocurre que el fenómeno de TB, observando la transgresión directa de los microorganismos a través del epitelio intestinal, su paso a las placas de peyer y posteriormente a los GLMs (16). En diversos estudios experimentales se ha demostrado que la TB ocurre por diferentes vías que van desde la agresión transmural de la barrera intestinal, vía hematológica o transperitoneal a través de las vías linfáticas (18-22). Estudios clínicos en pacientes quirúrgicos por patología no traumática permitieron establecer que la translocación bacteriana ocurre hasta en un 14% siendo establecida por cultivos de GLM por técnicas microbiológicas convencionales estandarizadas (8,23,24), de acuerdo con la amplia evidencia en literatura el cultivo de GLM permite afirmar que está ocurriendo un fenómeno translocación bacteriana.

El espectro de los gérmenes encontrados en los diferentes estudios ha contribuido a sustentar la teoría intestinal de la TB dada la alta prevalencia de gérmenes que son intestinales, siendo la *E. coli* el microorganismo más frecuentemente obtenido y en un 75% de los gérmenes aislados en los cultivos de GLM son enterobacterias (25). Con resultados similares a los nuestros donde La *Escherichia coli* fue el microorganismo más frecuente identificado en los cultivos de GLMs (23.5%) y las enterobacterias fueron

responsables del 60% de las infecciones posoperatorias cuando se identifico TB, (3 de 5) pacientes; En dos pacientes se aisló el mismo germen en GLM y en cultivo de infección posoperatoria; *Escherichia coli en GLM* y en secreción de herida quirúrgica, y *Klebsiella pneumoniae en GLM* y en colección intraabdominal, en otro paciente se aisló *Escherichia coli en GLM* y en secreción orotraqueal en el Posoperatorio. Estos hallazgos son consistentes con lo informado por la literatura científica. Se sabe que aproximadamente el 5% de los pacientes hospitalizados padecen infecciones nosocomiales (26), fundamentalmente urinarias, pulmonares o del foco quirúrgico, y que los gérmenes más frecuentemente aislados son E. Coli, estafilococo, enterococo y Pseudomonas. En algunas series las bacterias entéricas gram-negativas representan más del 75 % de los gérmenes responsables, al punto que, dado que con frecuencia no se identifica un foco exógeno de contaminación, se recurre al mecanismo de TB para su justificación.

Sin embargo, en los seres humanos el fenómeno de la translocación bacteriana no ha sido suficientemente estudiado. Pocos trabajos han investigado la relación entre translocación bacteriana confirmada microbiológicamente y una complicación séptica subsiguiente. Los trabajos de O'Boyle sobre prevalencia de TB (23) muestran que esta ocurre entre un 10 a 15 % de los pacientes intervenidos mediante laparotomía, pero que puede llegar hasta un 38,5% en casos de patología obstructiva intestinal o con enfermedad inflamatoria intestinal (15,8%).

Se realizo recolección del GLM al finalizar el procedimiento quirúrgico con la cavidad macroscópicamente limpia, obteniendo junto con el GLM una muestra de serosa con escobillón para control de microbiológico de contaminación la serosa, de los 36 cultivos de serosa 31 fueron negativos para crecimiento de gérmenes, lo que evidencia una adecuada

limpieza de la cavidad abdominal al finalizar el procedimiento quirúrgico por patología traumática, solo hubo un caso de crecimiento de el mismo germen aislado en GLM y en serosa que podría deberse a contaminación de la cavidad y la muestra, pero en este caso no hubo desarrollo de infección posoperatoria, en dos de los cultivos de serosa que fueron positivos no hubo TB, y en el curato cultivo de serosa positivo el germen aislado de la serosa era distinto al aislado en el GLM, en ninguno de los cultivos positivos de serosa hubo desarrollo de infección posoperatoria. Este es el primer trabajo publicado que se realiza en trauma abdominal con paciente por herida penetrante, los pocos trabajos publicados a la fecha en patología traumática solo contemplaban los pacientes con trauma cerrado de abdomen(28-30), previendo el riesgo de contaminación de las muestras por ser trauma penetrante, en nuestro trabajo se demuestra que una adecuado lavado de la cavidad abdominal al finalizar el procedimiento es suficiente para controlar este sesgo, asociado con la toma de muestra de serosa cercano al sitio de extracción del GLM. En los trabajos realizados en patología quirúrgica no traumática y TB (5-8,24,25) las muestras se tomaron tan pronto se ingreso a cavidad abdominal, es decir al inicio de la cirugía para evitar posible contaminación de la muestra, tanto en los estudios previos como por el desarrollado en nuestra investigación no hubo morbilidad asociada con la toma de muestra del GLM.

Teniendo en cuenta que el intestino actúa como un mecanismo de defensa contra la infección potencial que representa la íntima vecindad entre un medio que contiene materia fecal ( $4 \times 10^{11}$  a  $10^{12}$  bacterias /gramo) y más de 500 especies bacterianas diferentes y el torrente circulatorio, debemos considerar que el epitelio no es la única barrera de defensa. El sistema Linfoide Intestinal (GALT) del cual forma parte el GLM, las Ig secretoras como la IgA que se produce exclusivamente en el intestino, la presencia de ciertas sustancias

químicas como el ácido gástrico, las pepsinas, las sales biliares, lisozimas y enzimas pancreáticas, el componente de protección mecánica que ofrecen el moco, el peristaltismo intestinal, el mecanismo de inmunidad del paciente (31-36), es de suponer que en trauma se presentan condiciones particulares que favorecen la TB y que de ser cierto deberían tener una representación clínica en forma de infección Posoperatoria, en nuestra investigación las complicaciones infecciosas posoperatorias fueron más frecuentes, y se pudo establecer su significancia estadística en los pacientes en quienes se demostró TB (41.6 versus 12.5 por ciento;  $P < 0.047$ ). Es relevante resaltar la importancia del trauma como factor que favorece la translocación bacteriana, según lo podemos deducir de la diferencia entre la incidencia de TB en nuestra serie del 33.3%, al compararla con la de los pacientes sometidos a laparotomía por patología quirúrgica médica 14% (8,24,25).

Los resultados indican una elevada incidencia de translocación bacteriana en los pacientes con trauma abdominal (33.3%), incidencia no reportada previamente en estudios clínicos en pacientes con trauma. Esta incidencia es considerablemente más elevada que la demostrada en pacientes sometidos a laparotomía con patología no traumática (5-8) que en promedio es del 14%. Varios autores han intentado demostrar por diferentes métodos la TB en trauma abdominal y su posible asociación con infección posoperatoria, Moore et al en respuesta a los muchos reportes de modelos animales que demostraban translocación bacteriana, realizó uno de los primeros estudios clínicos sobre TB en trauma abdominal. En una cohorte de 20 pacientes que requirieron laparotomía, colocaron catéteres en la vena porta al momento de la cirugía y tomaron cultivos seriados portales, en sangre periférica y medición de endotoxinas. En este estudio no se estudiaron GLM. En 212 hemocultivos realizados, solo 8 fueron positivos y no se correlacionaron con el desarrollo de infección,

sepsis, falla orgánica o muerte (28). Peitzman et al. Publicaron una serie de 29 pacientes, 25 con trauma abdominal que requirieron laparotomía. Ninguno de los pacientes de trauma tuvo cultivos positivos para ganglio mesentérico y 3 de los 4 pacientes con patología no traumática tuvieron ganglios mesentéricos positivos. No encontraron relación entre crecimiento de microorganismos en ganglios mesentéricos y el desarrollo de morbilidad séptica y muerte (29).

En modelos animales se ha demostrado que el shock hemorrágico se asocia con fenómenos de TB (16), pero en estudios clínicos en trauma esta asociación no se ha podido evidenciar. Este estudio tampoco logra establecer asociación entre SH y TB. En nuestra serie la tensión arterial sistólica al ingreso menor 90mmhg tampoco se asoció con incremento de la TB, como tampoco el uso de antibiótico, el sangrado, la duración de la cirugía, el requerimiento de inotropía.

Kael et al, en una serie de 26 pacientes con trauma abdominal cerrado, conformaron dos grupos de 13 pacientes: el primero con shock hemorrágico (SH) y el segundo sin shock hemorrágico. En dos de los pacientes que presentaron SH encontraron cultivos positivos, uno en GLM y uno en hemocultivo de muestra portal. En el grupo de pacientes sin SH ocho de los trece pacientes tuvieron cultivos positivos: cuatro en la muestra de GLM y los otros cuatro en la muestra venosa portal, bazo o biopsia hepática. La morbilidad séptica posoperatoria en esta serie ocurrió en 11 pacientes, de los cuales cuatro tenían TB, permaneciendo incierta la importancia clínica de la TB (30).

Nuestra serie es la primera en describir la relación entre un índice de trauma abdominal mayor o igual a 10 como variable intraoperatoria para el desarrollo de TB (P=0.018) lo que

puede estar asociado al mayor estrés quirúrgico, órganos comprometidos, compromiso multivisceral y sobre todo a una mayor severidad de la lesión (9,28,30). Estudios previos habían identificado como variables preoperatorias independientes para el desarrollo de TB la nutrición parenteral total preoperatoria ( $P=0.015$ ) y la cirugía de emergencia ( $P=0.001$ ) (8). La literatura ha propuesto una serie de mecanismos que favorecen la TB y que se presentan muy particularmente en trauma: el enlentecimiento del flujo a nivel intestinal por el shock como resultante de la redistribución del flujo y las alteraciones que producen sobre el sofisticado mecanismo intercambiador contracorriente del sistema de vascularización intestinal en las vellosidades (34); las lesiones por reperfusión (35); la alteración de la ecología bacteriana intestinal; el aumento del pH gástrico por medicamentos antiH<sub>2</sub> e inhibidores de la bomba de protones; la disminución de la actividad motora por sedantes, relajantes y analgésicos. El mecanismo por el que llegan los gérmenes al medio interno no es por fagocitosis ni por las uniones intercelulares sino atravesando el enterocito por ruptura de las membranas, principalmente en íleon por las placas de Peyer, yeyuno y ciego, tal como se ha observado por microscopia electrónica (16), así mismo bajo ciertas circunstancias parece existir una relación de causalidad entre el germen que coloniza el GLM y el implicado en la infección posoperatoria, la cual que pudimos demostrar por secuenciación genética para la E. Coli donde el germen aislado era el mismo tanto en el GLM como en el sitio de infección posoperatoria.

Al realizar la regresión logística multivariada incluyendo las variables: ATI mayor de 10, sangrado intraoperatorio, UCI posoperatoria y tiempo de cirugía mayor a 120 minutos que fueron las variables que presentaron una diferencia significativa al ser evaluadas con una prueba T student asociadas a mayor riesgo de infección posoperatoria, la variable

independiente de mayor fuerza para TB e Infección posoperatoria fue el ATI mayor de 10 (P: 0.015).

¿Podemos considerar el GLM como un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones?; No lo creemos porque la presencia de gérmenes en los GLM lo que representa es la evidencia de un proceso que ya ha comenzado, microorganismo que dadas las condiciones clínicas del paciente, la alteración del equilibrio del medio interno ha permitido vencer la barrera intestinal, las inmunoglobulinas, el moco, el peristaltismo, los macrófagos, placas de peyer y finalmente la última defensa, los GLMs, es decir estamos ante un proceso infeccioso en curso, con lo cual el ganglio mesentérico sería un centinela de procesos mórbidos de la luz intestinal, se podría utilizar como marcador o prueba diagnóstica de una infección en curso.

¿Entonces como obtener alguna utilidad clínica de estos hallazgos? Consideramos que se puede tratar como una prueba diagnóstica, como marcador de una infección clínicamente relevante posible que se encuentra en curso, elaboramos una tabla de 2x2 para prueba diagnóstica encontrando una sensibilidad de 62,5%, una especificidad de 75%, un LR (likelihood ratio) positivo de 2.5 (IC 95% 1.08-5.77) y un LR negativo de 0.5 (IC 95% 0.2-1.25). VPP; 41,6 % y un VPN de 87,5%, siendo una propuesta novedosa con utilidad clínica que no se había tenido en cuenta previamente sobre todo en paciente quirúrgico con patología traumática abdominal.

Con utilidades clínicas por explorar, sobre todo en aquellos pacientes que ya identificamos tienen mayor riesgo de desarrollar TB e infección posoperatoria como son: Sangrado

intraoperatorio mayor a 1500 cc, ATI mayor o igual a 10, requerimiento de UCI en el posoperatorio.

Aunque nuestra serie es la más grande publicada a la fecha en pacientes con trauma y TB, se requiere un número mayor de pacientes para establecer otras asociaciones que podrían tener importancia clínica con el desarrollo de TB e infección posoperatoria.

Bajo circunstancias normales, las bacterias que translocan la barrera intestinal deberían ser fagocitadas antes de llegar a los ganglios linfáticos mesentéricos. Cuando los mecanismos de defensa normal fallan, permiten la salida y supervivencia de estas bacterias en sitios extraintestinales, lo cual está sustentado por amplia evidencia (5-8, 37-39). El presente estudio apoya este concepto y refuerza la evidencia en un campo poco explorado hasta el momento como es el del trauma abdominal y sugiere la posibilidad de utilizar el cultivo de GLM como una prueba “diagnóstica” para pronosticar el desarrollo de una infección PO clínicamente relevante, estar atentos a ella, tomar medidas terapéuticas de un manera mas eficiente.

Como conclusiones, esta investigación nos permite afirmar que la translocación bacteriana ocurre en pacientes con trauma abdominal, según lo evidencian los cultivos de GLM, y que la TB se asocia con un incremento en la incidencia de complicaciones sépticas posoperatorias, conclusiones que ningún otro estudio había podido establecer en pacientes con trauma y demostramos con asociación a nivel molecular, con un microorganismo aislado en el GLM es responsable de la infección posoperatoria, existiendo una relación de causalidad por la asociación que se presento cuando el germen identificado en el GLM era una enterobacteria tipo *E. coli* o *K. Pneumoniae* como se evidencio en los Kappa estadísticamente significativos, aportando evidencia respecto a la hipótesis intestinal del

origen de la sepsis. Sin embargo, para poder consolidar esta evidencia, es necesario establecer una correlación más estricta entre los factores de riesgo implicados en la TB con un número mayor de pacientes, así mismo ampliar los estudios de asociación a nivel molecular con genotipificación.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen al Hospital Occidente de Kennedy, al Laboratorio de Microbiología y muy especialmente al servicio de Cirugía General ya que sin su colaboración no hubiera podido realizarse este estudio. Igualmente a la Universidad del Rosario (UR) que aportó la financiación a través el Fondo de Investigaciones de la UR (FIUR), al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UR y a la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC) en el desarrollo y proceso de genotipificación.

### **Referencias**

1. Lemaire LCJM, van Lanschot JJB, Stoutenbeek CP et al. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or phenomenon still unproven. *Br. J. Surg.* 1997; 84: 1340–50.
2. Steinberg S.M. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg.* 2003;186: 301-05.
3. Deitch E.A, Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: What is important in human beings? *Surgery.* 2002;131:241-04.
4. Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 1989; 124: 699-701.

5. Segar PM, MacFie J, Sedman P, May J, Mancey\_Jones B, Johnstone D. Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 640-644.
6. Sakrak O, Akpınar M, et al. Short and Long-term of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1542-1546.
7. Takesue Y, Ohge H, Uemura H, Imamura Y, et al. Bacterial translocation in patients with Crohn's disease undergoing surgery. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1665-1671.
8. MacFie J. Bacterial translocation studied in 927 patients over 13 years. *Br J Surg.* 2006;93:87-93.
9. Borlase BC, Moore EE, Moore FA. The Abdominal trauma index-A critical reassessment and validation. *J trauma.*1990;30:1309-1427.
10. Frankel A. Ueber peritoneale infection. *Wien Klin Wochenschr*, 1891. 4, 241,265,285.
11. Flexner S. Peritonitis caused by the invasion of the micrococcus *Lanceolatus* from the intestine. *Jhon Hopkins Hosp Bull*, 1895. 6, 64-67.
12. Schweinburg FB, Frank HA, Frank ED, Heimberg F, Fine J Transmural Migration of intestinal bacteria during irrigation in uremic dogs. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1949. 71, 150-153.
13. Berg, R.D. and A.W. Garlington, Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect Immun*, 1979. 23(2): 403-11.
14. Deitch, E.A., The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. *Arch Surg*, 1990. 125(3): p. 403-4.

15. Stechmiller, J.K., D. Treloar, and N. Allen, Gut dysfunction in critically ill patients: a review of the literature. *Am J Crit Care*, 1997. 6(3): 204-9.
16. Alexander, J.W., et al., The process of microbial translocation. *Ann Surg*, 1990. 212(4): p. 496-510; discussion 511-2.
17. Saadia, R., et al., Gut barrier function and the surgeon. *Br J Surg*, 1990. 77(5):487-92.
18. Lange JF, van Gool J, Tytgat GN. The protective effect of a reduction in intestinal flora on mortality of acute haemorrhagic pancreatitis in the rat. *Hepatogastroenterology* 1987;34:28 –30.
19. Widdison AL, Karanjia ND, Reber HA. Route(s) of spread of bacteria in acute necrotizing pancreatitis [abstract]. *Pancreas* 1990;5:736.
20. Medich DS, Lee TK, Melhem MF, et al. Pathogenesis of pancreatic sepsis. *Am J Surg* 1993;165:46.
21. Marotta F, Geng TC, Wu CC, et al. Bacterial translocation in the course of acute pancreatitis: beneficial role of nonabsorbable antibiotics and lactitol enemas. *Digestion* 1996;57:446 –52.
22. Wang X, Andersson R, Soltesz V, et al. Gut origin sepsis, macrophage function, and oxygen extraction associated with acute pancreatitis in the rat. *World J Surg* 1996;20:299 –307. 24-28.
23. Sedman PC, MacFie J, Sagar P, et al. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology*. 1994; 107:643-9.
24. O'Boyle C, MacFie J, Mitchell CJ, et al. Microbiology of bacterial translocation in humans *Gut*. 1998; 42:29-35.

25. MacFie, J., et al., Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. *Gut*, 1999. 45(2): 223-8.
26. Center Disease Control, A., *Infect Control Hospital Epidemiol. CDC*, 2002(23): 106-108.
27. Berg RD, Wommack E, Deitch EA. Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation. *Arch Surg* 1988; 123:1350-1364
28. Moore FA, Moore E, et al, Gut Bacterial translocation via the portal vein: A clinical perspective with major torso trauma. *J trauma* 1991; 31: 629-638.
29. Peitzman AB, Udekwu AO, Ochoa J, Amith S. Bacterial Translocation in trauma patients. *J Trauma* 1991; 31:1083-6.
30. Kale IT, Kuzu MA, et al, The presence of hemorrhagic shock increases the rate of bacterial translocation in blunt abdominal trauma. *J Trauma, injury, infection and critical care* 1998; 44: 171-174
31. Drasar, B.S., M. Shiner, and G.M. McLeod, Studies on the intestinal flora. I. The bacterial flora of the gastrointestinal tract in healthy and achlorhydric persons. *Gastroenterology*, 1969. 56(1): 71-9.
32. Shimizu, K., et al., Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J Trauma*, 2006. 60(1):126-33.
33. Haglung, U. *Year book of intensive care and emergency medicine.* , ed. e.V.L. Springer-Verlag. 1991.
34. Reilly, P.M. and G.B. Bulkley, Vasoactive mediators and splanchnic perfusion. *Crit Care Med*, 1993. 21(2 Suppl): S55-68.

35. Souch P, P., Radicales libres y lesiones multisistemicas del shock. Shock y fallo multiorganico. 1992: Springer-Verlag, ed. B. S.
36. Quintero G.A, Aspectos quirurgicos de la infeccion en el paciente inmunocomprometido. Rev Col Cirugia, 1996;11:221-225.
37. Fine J. The Bacterial factor in traumatic shock. Springfield. IL: Charles C. Thomas Publisher, 1954.
38. Balzan S, et al. Bacterial translocation: Overview of mechanism and clinical impact, J Gastroenterol Hepatol 2007; 22: 464-471.
39. Ding LA, Li JS. Gut in diseases: physiological elements and their clinical significance. World J. Gastroenterol. 2003; 9: 2385-9.

