

Enterocolitis necrosante y traslocación bacteriana: papel de la nutrición enteral mínima*

I. Eizaguirre¹, N. García-Urki², A.B. Asensio², A. Cano², N. Samprón²,
J.M. García-Arenzana³, P. Bachiller⁴, P. Aldazabal²

¹Servicios de Cirugía Pediátrica, ²Unidad Experimental, ³Microbiología y ⁴Farmacia. Hospital Donostia, San Sebastián, España.

RESUMEN: Introducción. La enterocolitis necrosante (ECN) y la traslocación bacteriana (TB) presentan varias características comunes como son el sobrecrecimiento bacteriano, el déficit inmune y el daño de la mucosa intestinal, los cuales provocan un fallo en la función barrera intestinal.

Los principales objetivos de su tratamiento son reducir la mortalidad por sepsis y lograr la tolerancia digestiva los pacientes. En este sentido, la nutrición enteral mínima (NEM) (menos del 25% de las calorías suministradas por ruta enteral), es una técnica usada con frecuencia en neonatos que reciben nutrición parenteral total (NPT), con el objeto de frenar la atrofia de las vellosidades asociadas al ayuno y atenuar sus consecuencias.

Objetivo. El objetivo de este trabajo ha sido validar la hipótesis de que la NEM disminuye la incidencia de la TB en un modelo experimental de NPT.

Material y métodos. Veinticuatro ratas Wistar adultas fueron sometidas durante 10 días a un régimen de infusión continua de NPT a través de un catéter yugular. Se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos:

- Grupo Control (n=11): animales en ayunas con infusión de NPT estándar (300 ml/24 h, 280 kcal/kg/24 h), sin acceso a comida y agua.
- Grupo NEM (n=13): NPT estándar y dieta oral (hasta 15 g/24 h de pienso, 3,1 kcal/g) y acceso libre a agua.

Al final del experimento, los animales fueron sacrificados y se obtuvieron muestras de ganglios linfáticos mesentéricos (GGLL), sangre portal y sangre periférica para su posterior cultivo y diagnóstico de TB, que se definió como la presencia de enterobacterias en cualquiera de los campos observados.

Resultados. En el grupo NEM la curva de peso presentó una mejor evolución y la incidencia de la TB disminuyó significativamente, un 8%, frente al 45% del grupo CTRL ($p < 0,05$). El riesgo relativo (RR) fue de 5,9 (IC 95% 0,81-43,71) y el número necesario a tratar (NNT) fue de 3 (IC 95% 2-20).

Conclusiones. La NEM reduce la incidencia de la TB en un modelo experimental de nutrición parenteral, abriéndose como vía de investigación la suposición de que la reducción de la TB puede disminuir el riesgo de sepsis que pueden estar asociadas a la ECN.

Correspondencia: Iñaki Eizaguirre. Plaza del Deporte 8-3ºA. 20009 San Sebastián.

E-mail: ieizagui@chdo.osakidetza.net

*Presentado al XLIII Congreso Nacional de Cirugía Pediátrica, en Mayo de 2004

Recibido: Mayo 2004

Aceptado: Agosto 2006

PALABRAS CLAVE: Enterocolitis necrosante neonatal; Translocación bacteriana; Nutrición enteral mínima.

NECROTIZING ENTEROCOLITIS AND BACTERIAL TRANSLOCATION: ROLE OF MINIMAL ENTERAL NUTRITION

ABSTRACT: Introduction. Both necrotizing enterocolitis (NEC) and bacterial translocation (BT) have in common that bacterial overgrowth, a decrease in immunity and intestinal mucosal damage, followed by a barrier failure, can act as trigger factors.

The main objectives in NEC treatment are to reduce mortality due to sepsis and to promote feeding tolerance. To achieve that, Minimal Enteral Nutrition (MEN) (less than 25% of the calories provided by enteral route) is a more and more used technique in newborns who receive Parenteral Nutrition (PN) to slow down fasting related villi atrophy and to attenuate its consequences.

Aim. To test the hypothesis that MEN decreases BT in an experimental model of PN.

Methods. Twenty-four adult Wistar male rats received a continuous infusion of all-in-one PN solution through a jugular vein catheter. The animals were randomly divided in two groups and maintained in individual metabolic cages for ten days.

- Control group (N=11): fasting rats receiving, standard PN (300 mL/kg/24 h, 280 kcal/kg/24 h).
- MEN group (N=13): standard PN and rat chow (15 g/24 h, 3,1 kcal/g).

At the end of the experiment animals were sacrificed and mesenteric lymph nodes (MLN), and both peripheral and portal blood samples were recovered and cultured. Bacterial identification in blood was carried out by conventional methods and MLN culture was considered positive with a growth over 100 Colony Forming Units/g.

Results. Weight curve was better in MEN group and BT was also significantly reduced. Translocation was found in 45% of control group and 8% of MEN group ($p < 0,05$). The relative risk (RR) was 5,9 (IC 95% 0,81-43,71) and the number needed to treat (NNT) was 3 (95% CI 2-20).

Conclusions. 1. MEN reduces the incidence of BT in an experimental model of parenteral nutrition. 2. BT reduction could decrease NEC-related sepsis risk.

KEY WORDS: Neonatal necrotizing enterocolitis; Bacterial translocation; Minimal enteral nutrition.

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos prioritarios del tratamiento de la enterocolitis necrosante (ECN) es disminuir la mortalidad por sepsis, junto con la obtención de la autonomía digestiva de los pacientes. En este sentido, la nutrición enteral mínima (NEM), definida como el aporte inferior al 25% de las necesidades diarias por vía enteral, es una técnica recomendada como estímulo de la tolerancia digestiva, por su efecto trófico sobre la mucosa intestinal y para contrarrestar los efectos secundarios del uso prolongado de la nutrición parenteral (NP), tan empleada en estos pacientes⁽¹⁻⁵⁾.

En la ECN se dan con frecuencia tanto el daño de la mucosa, como el déficit inmunitario intestinal o el sobrecrecimiento bacteriano, circunstancias éstas que favorecen la traslocación bacteriana (TB), posible origen de la sepsis asociada a la ECN⁽⁶⁻⁸⁾.

El objetivo de este trabajo fue determinar si la NEM disminuye la TB, y por tanto podría beneficiar a los pacientes con ECN.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material

Veinticuatro ratas Wistar machos adultas (CRL: (WI) BR. Criffa, Barcelona) de 250 g criadas y mantenidas en nuestras instalaciones de acuerdo con la legislación vigente⁽⁹⁾, fueron sometidas a un régimen de infusión continua de NPT a través de un catéter yugular y distribuidas aleatoriamente en dos grupos. Los animales se mantuvieron durante 10 días en jaulas metabólicas individuales.

- Grupo Control (n=11): animales en ayunas, sin acceso a comida ni agua, con infusión continua de NPT estándar (300 ml/24 h, 280 kcal/kg/24 h).
- Grupo NEM (n=13): NPT estándar y dieta oral (pienso de mantenimiento A04 Panlab, Barcelona, hasta 15 g/24 h de pienso, 3,1 kcal/g) y acceso libre a agua.

La TB se definió como la presencia de Enterobacterias en cualquiera de los campos observados.

Procedimientos

Al final del experimento, los animales fueron anestesiados con un cóctel de atropina 0,1 mg/kg (Atropina® B. Braun Medical S.A.), ketamina 60 mg/kg (Ketolar® Parke-Davis) y diazepam 3 mg/kg (Valium®, Roche) por vía im y sacrificados en condiciones estériles mediante exanguinación por punción cardíaca. Se tomaron muestras de ganglios linfáticos mesentéricos (GGL), sangre portal y sangre periférica para su posterior cultivo y diagnóstico de TB.

Las muestras de sangre portal (1 ml) y periférica (2 ml) se inocularon en frascos de hemocultivo (Bacter, Bencton-Dickison, Maryland, USA) y se incubaron en un sistema automático de hemocultivo (Bacter 9240, Bencton-Dickison,

Maryland, USA) durante siete días. Las muestras de GGL se mezclaron la misma cantidad de suero salino estéril, se homogeneizaron y se cultivaron con un asa calibrada de 100 µl en placas de agar soja tripticase con sangre desfribinada de caballo, agar manitol y agar Mac Conkey. Las placas se incubaron durante 48 horas a 35°C.

La identificación de las bacterias se hizo por medios convencionales: catalasa, coagulasa, bilisesculina de la Gram (+), y mediante galería para la identificación de enterobacterias (Api 20E, Merieux, Francia) en los Gram (-). El cultivo de sangre tanto portal como periférica, se consideró positivo de forma cualitativa. En el caso del ganglio mesentérico, se consideró positivo un crecimiento ≥ 100 UFC/g.

Se definió la TB como la presencia de enterobacterias en cualquiera de los campos observados.

Todas las variables se describieron por métodos estadísticos comunes. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante los test Chi-cuadrado, con la corrección de Yates y «t» de Student. En todo el estudio se aceptó una $p < 0,05$ como nivel de significación estadística. Se calculó el riesgo relativo (RR) dividiendo la diferencia entre las tasas de TB, los grupos Control y NEM por la tasa de infección en el grupo NEM y el número necesario a tratar (NNT) calculando el inverso de la reducción del riesgo absoluto (RRA)⁽¹⁰⁾.

RESULTADOS

De acuerdo con los datos de la figura 1, la ganancia ponderal en el grupo NEM fue de $18,823 \pm 3,546$ g, en el grupo control fue de $-12,263 \pm 5,686$ g ($p < 0,001$).

Los porcentajes de TB de cada uno de los territorios observados se hallan reflejados en la tabla I, a nivel local (sangre portal y ganglio linfático mesentérico), a nivel sistémico (sangre periférica) y a nivel total (englobando todos los territorios).

La incidencia del grupo NEM fue de 8%, mientras que el grupo Control fue de un 45% ($p < 0,05$). El riesgo relativo (RR) fue de 5,9 (IC 95% 0,81-43,71) y el número necesario a tratar (NNT) fue de 3 (IC 95% 2-20), lo que indica que el riesgo de tener TB se reduce cinco veces si se administra NEM, y que es necesario tratar 3 animales con NEM para que uno quede libre de TB.

Analizando individualmente cada territorio, la TB en ambos grupos, a nivel local (sangre portal y ganglios linfáticos mesentéricos) las diferencias han sido igualmente significativas ($p < 0,05$). A nivel sistémico no hallamos diferencias.

DISCUSIÓN

El uso prolongado de la NP ha disminuido la mortalidad en numerosas enfermedades, aunque existen complicaciones graves causadas por su uso: infecciones relacionadas con el

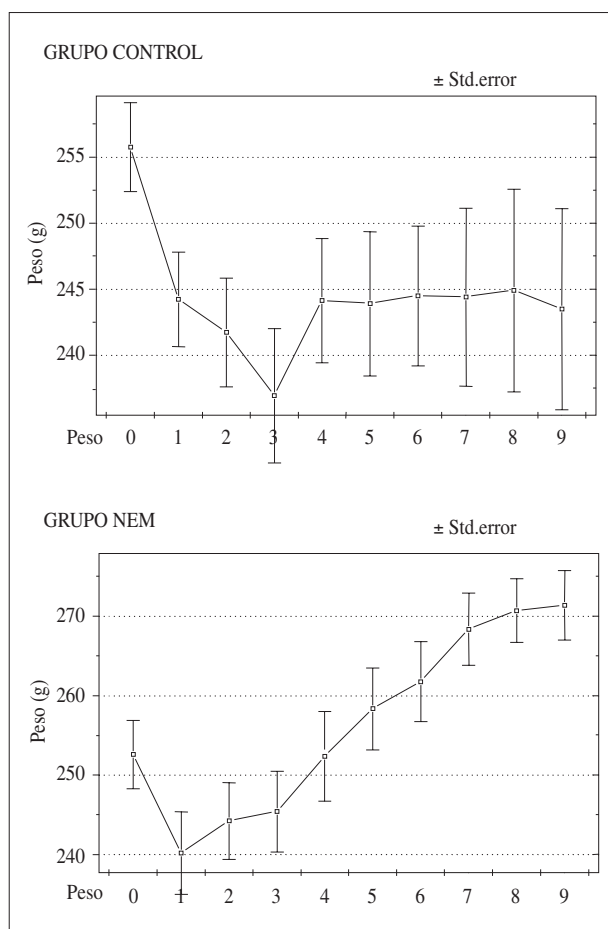


Figura 1. Curvas de evolución de pesos de ambos grupos.

catéter, atrofia de las vellosidades intestinales, alteraciones metabólicas, hepatopatía colostática y TB^(6-8,11-17). Esta última puede ser la responsable de los cuadros de sepsis en estos pacientes.

En cambio, la NEM por vía digestiva puede disminuir el riesgo de ECN, según se desprende de los datos de un meta-análisis⁽¹⁾ que agrupa 8 ensayos clínicos.

En los últimos años se han publicado numerosos estudios sobre la NEM con resultados diferentes. Sáenz de Pipaón y cols.⁽¹⁸⁾ encuentran un aumento en la captación de leucina en tejido esplácnico de recién nacidos pretérmino, mientras Basu y cols.⁽¹⁹⁾, que estudian la actividad de los radicales libres

en pacientes graves con nutrición parenteral, no encuentran disminución de los mismos cuando administran NEM.

Berseth y cols.⁽²⁰⁾ comparan la incidencia de ECN en recién nacidos de muy bajo peso con NEM o alimentación oral progresiva, empezando con 20 ml/kg/día, como en nuestro grupo de ensayo, y aumentando en fracciones de 20 ml de forma progresiva hasta llegar a 140 ml/kg/día. Observaron que la enfermedad aparecía en el 1% de los pacientes con NEM y en el 10% de los recién nacidos del otro grupo.

Las alteraciones en la motilidad intestinal, el sobrecrecimiento bacteriano, la inmunodepresión y la alteración de la mucosa intestinal provocan la TB^(5,6). Puesto que estas circunstancias se presentan con frecuencia en la ECN, ambos procesos pueden estar relacionados. Con la alteración en la mucosa que existe, la TB debe ser muy frecuente.

Más difícil es explicar cómo la TB por sí misma, puede condicionar o desencadenar la ECN. Esta última hipótesis podría ser motivo de un nuevo trabajo de investigación para intentar determinar algunas de sus causas, aun ignoradas.

En nuestro trabajo hemos comprobado que la NEM disminuye la incidencia de la TB asociada a la nutrición parenteral, lo que puede tener importancia en el pronóstico de la ECN, ya que la sepsis de origen intestinal es una de las causas más importantes de mortalidad. Si se consigue frenar la TB, el riesgo de sepsis descenderá.

Como conclusión: hemos comprobado que la NEM reduce la incidencia de la TB en un modelo experimental de nutrición parenteral, abriéndose como vía de investigación la suposición de que la reducción de la TB puede disminuir el riesgo de sepsis asociada a la ECN.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tyson JE, Kennedy KA. Minimal enteral nutrition for promoting feeding tolerance and preventing morbidity in parenterally fed infants. *The Cochrane Database Of Systematic Reviews* 2002;2.
2. Caplan MS, Jilling T. Neonatal Necrotizing Enterocolitis: possible role of Probiotic supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;**30**(2):S18-S22.
3. Jilling T, Jing L, Jackson M, Caplan MS. Intestinal epithelial apoptosis initiates gross bowel necrosis in an experimental rat model of Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Pediatr Res* 2004;**55**(4):622-629.
4. Sax HC, Illing KA, Ryan CK, Hardt H. Low-dose enteral feeding is beneficial during total parenteral nutrition. *Am J Surg* 1996;**171**(6):587-590.

Tabla I Incidencia de la TB de ambos grupos de los diferentes territorios observados

Grupo	Número de animales		TB Local		TB Sistémica		TB Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Control	N=11		5	45	1	9	5	45
NEM	N=13		1	8	1	8	1	8

5. Steinwender G, Schimpl G, Sixl B, Kerbler S, Höllwath ME, Wenzl HH. Effect of nutritional deprivation and diet on translocation of bacteria from the gastrointestinal tract in newborn rat. *Pediatr Res* 1996;**39**(3):415-420.
6. Edmiston CE, Condon RE. Bacterial translocation. *SGO* 1991;**173**: 73-83.
7. Yajima M, Nakayama M, Hatano S, Yamazaki K, Aoyama Y, Yajima T, Kuwata T. Bacterial translocation in neonatal rats: the relation between intestinal flora, translocated bacteria, y influence of milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;**33**(5):592-601.
8. Wesley Alexander J, Boyce S, Babcock G. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990;**212**(4):496-510.
9. Diario Oficial de las Comunidades Europeas 1986, 18 de Diciembre- NL 358/1 al NL 358/28.
10. Sackett DL, Richardson WS, Rosenberg W, Haynes RB. En: *Medicina Basada en la Evidencia. Cómo ejercer y enseñar la MBE*. Madrid: Ed Churxhill Livingstone 1997;**P**:117-119.
11. Cooper A, Floyd TF, Ross III AJ, Bishop HC, Templeton JM, Ziegler MM. Morbidity and mortality of short-bowel syndrome acquired in infancy: an update. *J Pediatr Surg* 1984;**19**:711-718.
12. Pedron Giner C, Moreno Vilres JM. Síndrome de intestino corto: un abordaje pluridisciplinar. *Ann Pediatr* 1999;supl126:1-3.
13. Alverdy JC, Aoyo E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1998;**104**:185-190.
14. Eizaguirre I, Aldamiz L, Aldazabal P, García N, Asensio A, Bachiller P, Garcia-Arenzana J, Sanjurjo P, Perez Nanclares G. Capacidad antioxidante tisular y traslocación bacteriana bajo nutrición parenteral. Estudio experimental. *Cir Pediatr* 2002;**15**: 29-33.
15. Vanderhoof J, Langnas A. Short-bowel syndrome in children and adults. *Gastroenterology* 1997;**113**:1767-1778.
16. Keim NI. Nutritional effectors of hepatic steatosis induced by parenteral nutrition in the rat. *JPEN* 1987;**11**(1):18-22.
17. Lawrence Moss R, Das JB, Raffernsperger JG. Total parenteral nutrition-associated cholestasis: clinical and histopathologic correlation. *J Pediatr Surg* 1993;**28**(10):1270-1275.
18. Sáenz de Pipaón M, VanBeek RNT, Quero J, Perez J, Wattimena DJL, Sauer PJJ Effect of minimal enteral feeding on splanchnic uptake of leucine in the postabsorptive state in preterm infants. *Pediatr Res* 2003;**53**:281-287.
19. Basu R, Muller DP, Papp WE, Merryweather I, Eaton S, Klein N, Pierro A. Free radical formation in infants: the effect of critical illness, parenteral nutrition and enteral feeding. *J Pediatr Surg* 1999;**34**:1091-5.
20. Berseth CL, Bisquera JA, Paje VU. Prolonging small feeding volumes early in life decreases the incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2003;**111**:529-534.