Modelo de infecciones intraabdominales

M. Carmen Balagué[a,*], Eduardo Mª Targarona[b] y Miguel Cainzos[c]

[a]Servicio de Cirugía General. IDIBAPS-Hospital Clínic. Barcelona. [b]Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [c]Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital General de Galicia. Santiago de Compostela. La Coruña.

RESUMEN

La infección continúa siendo un grave problema en todas las disciplinas clínicas. El desarrollo de modelos experimentales de peritonitis ha resultado determinante en el progreso del conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que tienen lugar en el peritoneo en presencia de una infección intraabdominal, así como en el estudio de posibles tratamientos.

En la actualidad, diferentes autores orientan sus estudios a la identificación y valoración del papel que ejercen los diferentes mediadores liberados por las células implicadas en la respuesta peritoneal y sus posibles interacciones, así como en el desarrollo de sustancias destinadas a la regulación de la respuesta del huésped.

Los modelos de peritonitis más utilizados consisten en la realización de ligadura y perforación cecal, inoculación intraperitoneal de cápsulas de gelatina con mezcla de heces o cultivos bacterianos o bien la implantación intraperitoneal de heces. Presentamos los aspectos técnicos para la realización de estos modelos cuya elección se basará en los objetivos del estudio que se desee realizar.

Por su parte, la introducción de la cirugía laparoscópica ha permitido revaluar la fisiopatología de la infección intraabdominal, al observar una mejor respuesta peritoneal respecto a la cirugía abierta.

Palabras clave:
Shock séptico. Absceso intraabdominal. Modelo experimental.

INTRAABDOMINAL INFECTION MODEL

Infection is still a serious complication in all clinical disciplines. The development of experimental peritonitis models has allowed to progress in the knowledge of peritoneal pathophysiological events during peritonitis and to study different treatments.

Actually, different authors have oriented their studies not only to the identification and evaluation of peritoneal cells-induced mediators role and their interactions in the response to a intraabdominal infection but also to the development of substances with ability to host response regulation.

The most used experimental peritonitis models have been the ligation with puncture of the coecum, intraperitoneal introduction of pooled feces mixed with barium sulphate or bacterial culture in a gelatin capsule and the installation of fresh feces through an abdominal incision. We present the technical aspects of different models. The aim of the study will determine its selection.

By another hand, the introduction of laparoscopic surgery has permited to reevaluate the intraabdominal infection pathophysiology after the observation of a better peritoneal response that after conventional surgery.

Key words:
Sepsis syndrome. Intraabdominal sepsis. Experimental model.

Introducción histórica

El descubrimiento de los antibióticos llevó a muchos a creer que la infección pasaría a formar parte de la historia de la medicina en lugar de continuar siendo un grave problema. Una década después, la observación de resistencias a los antibióticos demostró la capacidad de adaptación de las bacterias. Otra vez la naturaleza enseñaba al hombre una importante lección de ecología que nunca debería olvidar. Más de 50 años después del descubrimiento de los antibióticos, la infec-

*Correo electrónico: cbalagué@sendanet.es.

ción es todavía un grave problema en todas las disciplinas clínicas y continúa representando una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes con traumatismos graves[1,2].

La experiencia clínica ha demostrado que a pesar de la aparición de nuevos y mejores antibióticos, éstos no son la única solución en el tratamiento del shock séptico, pero la diversidad de microorganismos implicados y los tratamientos, en muchas ocasiones individualizados, de los pacientes con sepsis, dificultan la realización de estudios controlados en el hombre. Esto hace necesaria la utilización de modelos experimentales que reproduzcan el curso clínico de la sepsis a partir de sus diferentes orígenes y permitan reducir el número de variables no controladas[2].

Las interacciones existentes entre microorganismos y peritoneo han intrigado a multitud de investigadores y la capacidad de defensa de la cavidad peritoneal frente a una infección ha suscitado gran interés desde el siglo pasado, cuando se hizo evidente su capacidad de respuesta a una infección grave tanto en peritonitis clínicas como experimentales[3].

Los primeros estudios, realizados a finales del siglo pasado, utilizaron la inoculación intraperitoneal de partículas de grafito y demostraron la existencia de un mecanismo de absorción peritoneal[4,5]. Inicialmente prevaleció la hipótesis de que las partículas eran absorbidas a través del citoplasma de las células mesoteliales diafragmáticas. Fue Florey[6] quien demostró que las partículas no pasaban a través de las células mesoteliales sino entre ellas.

Desde principios de nuestro siglo se ha considerado que la correlación anatómica con el mecanismo de eliminación de las partículas le corresponde al sistema linfático localizado por debajo del mesotelio diafragmático. Los movimientos inspiratorios y expiratorios del diafragma permiten la apertura y cierre de los *stomas* (brechas) situados entre las células mesoteliales y el consecuente acceso desde la cavidad peritoneal a las lagunas linfáticas. Allen[7] demostró en sus estudios experimentales en ratones que las partículas de grafito podían encontrarse en el conducto torácico a los 3-5 min de su inoculación intraperitoneal, indicando la rapidez con la que algunas partículas pueden ser absorbidas. Así mismo, Allen y Weatherford[8] midieron el tamaño de los *stomas* en rata mediante la utilización de esferas de poliestireno. Higgins[9], en estudios experimentales en perros, demostró que la exéresis del epiplón mayor no influía en el paso de grafito al conducto torácico, mientras que la neurectomía frénica, con la consecuente atrofia diafragmática, provocaba un incremento de la absorción translinfática.

Steinberg[10] utilizó inóculos bacterianos en sus estudios experimentales en perros y también comprobó el paso de bacterias al conducto torácico a los 6-10 min después de su inoculación intraperitoneal mientras que no se detectaban en sangre hasta pasados unos 30-40 min. Por otra parte, Cohn[11] estudió los efectos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus albus* sobre la capacidad de defensa de la cavidad peritoneal en el ratón y concluyó que la mortalidad se correlacionaba directamente con la proliferación bacteriana intraperitoneal, que los organismos que producían un retraso en la aparición de polimorfonucleares en la cavidad peritoneal eran algo más virulentos y que el crecimiento intraperitoneal ocurría cuando se excedía una relación 10:1 entre bacterias y fagocitos en cavidad peritoneal. Así pues, otro factor importante era la capacidad de respuesta celular local frente a la infección. En la actualidad, un aspecto ampliamente estudiado es el papel de los macrófagos intraperitoneales en el mecanismo de defensa del peritoneo frente a una infección[3]. Esto ha sido posible gracias al progresivo desarrollo de la biología molecular, que ha revelado una gran complejidad de respuestas celulares a un proceso séptico. Los modelos experimentales se han hecho decisivos en llevar este conocimiento al progreso clínico[1].

TABLA I
CONSIDERACIONES GENERALES AL PLANEAR UN ESTUDIO EXPERIMENTAL

1. Modelos alternativos: cultivos celulares
2. Características del animal a utilizar (modelo de animal "pequeño" o "grande")
3. Características de las diferentes especies para las reacciones de interés
4. Tratamiento del dolor y anestesia
5. Número de animales necesario para obtener resultados científicamente relevantes

Descripción del modelo *in vivo*

Consideraciones generales

Antes de proceder a la descripción del modelo *in vivo*, es preciso tener en cuenta la posibilidad de alternativas como los cultivos celulares, el animal de experimentación que más puede ajustarse al estudio o el número de aquellos que serán necesarios (tabla I)[1].

La utilización de cultivos celulares permite reducir el número de factores no controlados. Sin embargo, no ofrecen la posibilidad de reflejar las condiciones *in vivo*. Los cultivos celulares pueden utilizarse en la valoración del efecto (estimulación/inhibición) de una sustancia sobre una línea celular como paso previo a los estudios en animales de experimentación[1], pero las interacciones entre órganos o la supervivencia no pueden estudiarse mediante modelos de cultivos celulares.

En cuanto a los modelos *in vivo*, es importante tener en cuenta que el estado nutricional, así como las reacciones a la anestesia y la manipulación del animal, son importantes moduladores de su sistema de defensa. En consecuencia, es conveniente monitorizar la respuesta humoral y celular del organismo una vez realizada la anestesia y antes del inicio del estudio[12].

Selección del animal para el estudio

Un paso previo a la selección del animal consiste en decidir si se utilizará un animal "grande" o "pequeño". Los animales de pequeño tamaño son más económicos, manejables y ofrecen la posibilidad de poder utilizar un mayor número de los mismos en los grupos de estudio. Cuando el objetivo es valorar la mortalidad y la dosis o combinación de diferentes agentes, es preferible utilizar inicialmente animales pequeños y, posteriormente, pasar a un animal grande si es difícil la extrapolación de la dosis. Durante los últimos 40 años se ha obtenido una gran cantidad de información genética e inmunológica del ratón a partir de los numerosos estudios experimentales realizados en estos animales. Los modelos de infección intraabdominal realizados en ratones son de especial importancia cuando el objetivo principal del estudio es la medición de reacciones intercelulares y células inmunocompetentes[1]. Sin embargo, es frecuente que la monitorización de resultados obligue a la extracción de repetidas muestras de sangre con la consecuente dificultad de trabajar con animales pequeños como el ratón.

Los animales más utilizados en estudios de infección intraabdominal son la rata y el cerdo, que representan el mejor ejemplo de animales "pequeños" y "grandes", respectivamente. Además, existe mucha información genética tanto sobre ratas como sobre cerdos, lo que favorece la producción comercial de sistemas de ensayos monoclonales y modificadores de la respuesta biológica específica de cada especie que permitirán su utilización en estudios en los que en el momento actual todavía se precisa la utilización del ratón, con las limitaciones que implica trabajar con un animal tan pequeño.

La rata es un buen animal de laboratorio para estudios de infección intraabdominal. Su anatomía y la respuesta a la peritonitis son muy similares a las reacciones observadas en humanos. Los órganos del sistema gastrointestinal, vascular y linfático tienen un tamaño suficiente para llevar a cabo procedimientos quirúrgicos y para la colocación de catéteres. En el momento actual es posible monitorizar adecuadamente una rata, lo que resulta de gran importancia en estos estudios.

Anestesia

Otro aspecto a tener en cuenta es la posible interferencia de los procedimientos anestésicos sobre los resultados del estudio diseñado. La función cardiovascular y respiratoria variarán durante el shock séptico, pero es preciso tener en cuenta que estos cambios también dependerán de la profundidad de la anestesia. Este hecho será más evidente en estudios con cerdos en los que se utilicen barbitúricos, cuyas interferencias con la función cardíaca y respiratoria son conocidas. Es posible controlar este problema mediante la monitorización de las concentraciones de anestésico o mediante la utilización de anestésicos cuya interferencia sea mínima (p. ej., ketamina). Por ello, también resulta conveniente la monitorización tras la anestesia y antes de iniciar el estudio[12]. En caso de utilizar el cerdo como animal de estudio, es preciso tener en cuenta la posibilidad de una reacción de estrés importante o de una reacción hipertérmica letal debida a la utilización de halotano en la anestesia y que puede ser difícil de distinguir de una reacción aguda a la endotoxina o a microorganismos administrados para el estudio.

Nuestra pauta de anestesia en cirugía experimental en cerdo consiste en una premedicación con 10 mg/kg de azaperon por vía i.m., 60 min antes de iniciar la anestesia. La anestesia se induce con un bolo intravenoso de thiopental a dosis de 20 mg/kg. Otros autores administran un bolo de ketamina a dosis de 20 mg/kg por vía intramuscular[13,14]. En ese momento se intuba al animal y se mantienen las condiciones del ventilador con una FiO_2 de 0,5, un volumen tidal que permita mantener una pCO_2 de 40 ± 5 mmHg, y una frecuencia de 12-14 respiraciones/min. Estas condiciones de la ventilación son comunes para diferentes estudios experimentales[13,14]. La anestesia se pue-

de mantener con isoflurano inhalado a una concentración del 0,6-1 % y con una perfusión i.v. de 1 mg/h de bromuro de pancuronio que asegura la relajación muscular. Se mantiene una perfusión de suero fisiológico al 0,9 % y de suero glucosado al 5 % a dosis de 2 ml/kg/h cada una. Es importante mantener al animal a una temperatura central de 36,5-37,5 °C, si es necesario mediante la utilización de focos o bien con la administración de suero caliente.

Los estudios con animales pequeños permiten un manejo más fácil y no se precisa la infraestructura del animal grande. En el caso de la rata se puede utilizar como anestésico la inhalación continua de éter[2,15], la administración intraperitoneal de pentobabital a una dosis de 15 mg[16], o bien la administración intramuscular de ketamina a dosis de 50 mg/kg asociada con xilazina a dosis de 10 mg/kg[17].

Utilizamos, para los estudios experimentales, ratones *swiss* albino machos CD-1 (Charles River, Saint Aubin Les Elbeuf, Francia) de 6-8 semanas de edad y con un peso de 25-30 g. La anestesia se realizó mediante la inoculación intraperitoneal de 0,05 ml de pentobarbital sódico al 5 %.

Monitorización del animal

Para asegurar que estamos frente a un modelo de sepsis de origen abdominal se deben cumplir unos criterios básicos[1]:

1. Posibilidad de aislar microorganismos en la sangre o en la cavidad peritoneal.
2. Uno o más signos objetivos de infección: fiebre, taquicardia, taquipnea, oliguria, letargo o muerte.
3. Alteraciones de los parámetros celulares o bioquímicos.

La valoración de estos criterios, así como la realización de las determinaciones del estudio, requieren una adecuada monitorización del animal.

Para la obtención de muestras e infusión de sustancias es suficiente la colocación de un catéter venoso. Es posible la cateterización de la vena cava superior a través de punción en vena yugular[18]. Se han descrito un gran número de métodos de monitorización cardiovascular en ratas, pero debe tenerse en cuenta que la utilización de estos sistemas en un animal de reducido volumen sanguíneo como la rata puede interferir en el estudio y hacer que el modelo sea poco preciso, por lo que es recomendable una monitorización "global". Con la colocación de un catéter en la vena cava y en la aorta ascendente pueden medirse el gasto cardíaco (por técnicas de dilución o microesferas) y la presión arterial. A partir de estos datos se podrán calcular las resistencias vasculares[19-21]. También puede estudiarse la linfa peritoneal mediante la cateterización del ductus torácico[22], así como el consumo de oxígeno[23].

La monitorización del animal grande presenta dos aspectos; por una parte, la monitorización básica y, por otra, la monitorización de un órgano concreto o una función celular. La monitorización básica puede realizarse mediante equipos clínicos estándar con pequeñas modificaciones o bien mediante equipos pediátricos, y consistirá en el soporte ventilatorio y en el control de la función respiratoria mediante gasometrías, así como la colocación de un catéter de Swan-Ganz a través de la vena yugular externa y de un catéter de presión arterial a través de la arteria femoral izquierda para el control hemodinámico. Es necesario mantener una perfusión continua de sueros (suero salino al 0,9 % y suero glucosado al 5 %) a una velocidad de 20 ml/kg/h durante la intervención quirúrgica y de 10 ml/kg/h durante el período de observación. Para el control de la diuresis es necesario realizar un sondaje vesical. Puede ser precisa la realización de una cistotomía en el caso del cerdo macho por la gran dificultad de colocación de una sonda vesical. La monitorización especial dependerá de los objetivos del estudio y, desde un punto de vista técnico, prácticamente todos los signos vitales medibles en humanos pueden controlarse en el cerdo.

Modelos in vivo *de peritonitis*

Un modelo animal de infección intraabdominal ideal debería cumplir los siguientes requisitos:

1. Ser capaz de simular el proceso infeccioso observado en el humano.
2. Ser fácil de reproducir.
3. Producir una agresión séptica con poca variabilidad entre los animales.

Se han descrito diferentes tipos de modelos de peritonitis. La elección de uno u otro se basará en los objetivos del estudio diseñado:

1. Ligadura y perforación cecal.
2. Inoculación intraperitoneal de monocultivo bacteriano.
3. Colocación intraabdominal de cápsulas de gelatina con heces o cultivos bacterianos.

4. Implantación intraperitoneal de heces.
5. Isquemia de un segmento intestinal.
6. Modelo de absceso intraabdominal.

Por la legislación vigente, un cuadro de peritonitis bacteriana prolongada en animales grandes deberá incluir anestesia y soporte respiratorio mecánico (unidad de cuidados intensivos). Por ello, la mayoría de modelos están diseñados para obtener resultados de los objetivos planteados durante las primeras 12 h.

1. Modelo de ligadura y perforación cecal

Ryan et al[24] propusieron inicialmente un modelo de peritonitis producido mediante la ligadura y necrosis del ciego distal a la válvula ileocecal en la rata. Posteriormente, Chaudry et al[25] combinaron la ligadura con la punción del ciego, puesto que tras la ligadura aislada del ciego únicamente observaron la formación de abscesos sin mortalidad. Con la punción en el borde antimesentérico del ciego objetivaron un aumento significativo de la mortalidad, que dependía del tamaño o del número de punciones. Así pues, observaron que la realización de dos punciones daba lugar a una mortalidad del 94 % a las 48 h, mientras que con la realización de una única punción se obtenía una mortalidad del 90 % a los 5 días. Éste es un modelo utilizado con bastante frecuencia y muy reproducible. Con este modelo se puede obtener tanto la fase hiper como hipodinámica de la sepsis.

Es frecuente su utilización en animal de experimentación pequeño, sin embargo, es un modelo poco utilizado en el cerdo. Aunque no se conozca el tamaño del inóculo, el hecho de dejar una cantidad controlable de heces por debajo de la ligadura y la realización de un orificio de igual tamaño puede dar lugar a una salida bastante controlada de heces a la cavidad peritoneal. Deben tenerse en cuenta algunos detalles como asegurar una cantidad de heces por debajo de la ligadura y la ausencia de hemorragia en el lugar de la punción.

2. Modelo de inoculación intraperitoneal de monocultivo bacteriano

Es un modelo muy utilizado para inducir peritonitis en la rata[3,15], pero es más difícil producir una mortalidad significativa y no reproduce el ambiente polimicrobiano de la peritonitis[26] con los consecuentes cambios secundarios a interacciones simbióticas. En consecuencia, es preferible un cultivo polimicrobiano. Rotstein y Kao[27] demostraron en su modelo la importante sinergia existente entre *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis*.

Sin embargo, este modelo puede ser de utilidad en estudios en los que se pretende monitorizar la respuesta a una contaminación intraabdominal sin llegar a producir una peritonitis. Éste es el caso del estudio llevado a cabo por nuestro grupo. Para la valoración de la concentración de monocultivo bacteriano necesario para inducir la situación que queríamos estudiar fue necesaria la realización de un preestudio. Con este fin se definió el parámetro "concentración máxima subletal 72 h" (CMS72) como la concentración máxima de *E. coli* a la cual sobrevivían todos los ratones al cabo de 72 h. Para calcular este parámetro se administraron inóculos intraperitoneales de 1 ml de suspensiones en suero fisiológico (NaCl al 0,9 %) de *E. coli* a concentraciones crecientes y se comprobó que la CMS72 era 1 ml $\times$ 0,5 $\times$ 10^4 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml (tabla II).

Se utilizan suspensiones de *E. coli* a diferentes concentraciones en función del estudio y del animal utilizado. Existe una importante variabilidad en cuanto a las concentraciones de inóculos utilizados, por ello se recomienda valorar previamente la concentración idónea para el mismo, utilizando márgenes pautados por estudios previos llevados a cabo por otros autores, lo que resulta más factible en animales pequeños. En el cerdo, suele utilizarse una inoculación intraperitoneal de aproximadamente 2,5 $\times$ 10^9 UFC de *E. coli*.

TABLA II
VALORACIÓN DE LA DOSIS ADECUADA PARA EL ESTUDIO

Dosis infectiva	*Número*	*Cultivo de líquido peritoneal*	*Hemocultivo*	*Mortalidad*
10^2 UFC/ML	10	– / +: 10/0	– / +: 10/0	0
10^3 UFC/ML	10	– / +: 10/0	– / +: 10/0	0
10^4 UFC/ML	10	– / +: 0/10	– / +: 4/6	0
10^6 UFC/ML	10	– / +: 0/10	– / +: 0/10	4
10^8 UFC/ML	10	– / +: 0/10	– / +: 0/10	10

3. Modelo de colocación de cápsula de gelatina con contenido fecal o bacteriano

A partir de 1974, se ha utilizado la colocación intraabdominal de cápsulas de gelatina que contienen heces o una mezcla de bacterias y sustancia adyuvante. Este modelo tiene la capacidad de semejar la formación de abscesos intraabdominales y dar lugar a una sepsis generalizada.

Mezcla de heces en cápsulas de gelatina. Existen diferentes posibilidades para la preparación del inóculo con que impregnar las cápsulas de gelatina, pero todas ellas se basan en una mezcla de heces y sulfato de bario al 10 % a partir del modelo descrito por Weinstein et al[28,29]. En este modelo, el estudio del exudado durante la fase de peritonitis aguda presentó un predominio de gérmenes aerobios *E. coli* y enterococo, mientras que los gérmenes anaerobios *B. fragilis* y fusobacterias predominaban durante la fase de absceso.

Lang et al[2] se basaron en el modelo de Weinstein y diseñaron un inóculo preparado a partir de la mezcla de heces frescas recogidas de 100 ratas mantenidas con una dieta estándar. Las heces se mezclaron con un volumen equivalente de concentrado de caldo de carne y el resultado se almacenó a –60 °C. En el momento del estudio, el inóculo se mezclaba con 2 volúmenes de suero salino y con sulfato de Bario al 10 %. El preparado resultante se colocaba en cápsulas de gelatina. En este estudio los tests bacteriológicos del inóculo tuvieron una distribución de colonias constante (tabla III). El inóculo fue preparado en condiciones aeróbicas, con una relación aerobios-anaerobios de 100:1.

Nichols et al[30] modificaron la técnica de Weinstein y utilizaron mezcla de heces humanas con sulfato de bario a causa de las diferencias observadas entre la flora fecal humana y la de la rata. Los gérmenes predominantes en este estudio fueron *E. coli, Streptococcus fecalis, B. fragilis* y *Clostridium perfringens*.

Un detalle a tener en cuenta es que los tests bacteriológicos del inóculo presentarán diferencias en función de la dieta de los animales de los que se obtienen las heces para la preparación de la mezcla.

TABLA III
BACTERIOLOGÍA DEL INÓCULO FECAL[2]

Microorganismo	*UFC/ml*
Aerobios	
Lactobacillus	10^8
Enterococcus	10^7
Escherichia coli	10^5
Proteus	10^5
Klebsiella	10^4
Pseudomonas	10^2
Anaerobios	
Bacteroides	10^6
Clostridium	10^2

UFC: unidades formadoras de colonias.

Colonias de bacterias en cápsulas de gelatina. Hansson et al[31] utilizaron este modelo según la descripción llevada a cabo por Onderdonk[29]. Para la preparación de las cápsulas se aislaron cepas de *B. fragilis* y de *E. coli* que crecieron en un medio de glucosa enriquecido (PYG) a 37 °C y en condiciones anaerobias durante 24 y 6 h, respectivamente, hasta obtener 10^9 UFC de cada una. Los cultivos fueron diluidos con PYG hasta obtener concentraciones de $2{,}5 \times 10^7$ de *B. fragilis*/ml y $1{,}3 \times 10^7$ de *E. coli*/ml. Se mezclaron volúmenes iguales de ambas preparaciones y se mezcló con un volumen igual de contenido colónico de rata esterilizado en el autoclave. Finalmente se añadió sulfato de bario al 10 %. La preparación se congeló a –80 °C hasta su colocación en cápsulas de gelatina en cantidades desde 0,35 a 1,10 g.

Las cápsulas de gelatina se colocan en la cavidad abdominal del animal mediante la realización de una laparotomía media.

4. Modelo de implantación intraperitoneal de heces

Rink et al[32] utilizaron este modelo que consiste en la implantación en la cavidad abdominal de heces frescas (1,25 g/kg) suspendidas en 2 ml de suero salino al 0,9 % a través de una incisión de la pared abdominal. Las heces se obtuvieron del ciego de una rata sometida a la misma dieta que las del estudio. No se utilizaron cápsulas de gelatina ni sustancias adyuvantes. La mortalidad fue del 100 % a las 24 h y los cultivos presentaban gérmenes aerobios y anaerobios.

5. Modelo de isquemia de un segmento intestinal

Algunos autores han basado sus modelos en la inducción de isquemia de un tramo intestinal.

Olofsson et al[33] utilizaron un modelo en el que sometían a las ratas a una isquemia del ciego y de los 20-30 cm distales del íleo mediante la ligadura selectiva de los vasos de la zona.

6. Modelo de absceso peritoneal

Resulta más difícil la elaboración de modelos experimentales que semejen la situación de un absceso intraabdominal localizado. En 1892 Massart fue capaz de reproducir esta situación mediante la colocación intraabdominal de un tubo de cristal abierto con cultivo bacteriano en su interior. Guirao et al[34] han desarrollado un modelo experimental de absceso intraabdominal en conejo. Para ello llevan a cabo la ligadura de los 4 cm distales del apéndice que se introduce a través de un orificio realizado en la base del epiplón con el que se cubre el apéndice asegurándolo con puntos de sutura. Tras reintroducir el apéndice cubierto por el epiplón en la cavidad abdominal, proceden a la instilación de 30 ml de suero salino en la cavidad abdominal y al cierre de la pared con puntos sueltos de seda 3/0. El tipo de microorganismos encontrados tras la rotura apendicular es similar a la flora en el hombre. Este modelo permite estudios metabólicos y nutricionales. Además, el tamaño del conejo permite la obtención de repetidas muestras de sangre de forma más factible que en el caso de utilizar un animal más pequeño.

Ventajas y limitaciones del modelo experimental

Resulta difícil conseguir un modelo que cumpla los requisitos mencionados en el apartado anterior[34]. La mayoría de ellos, como la administración de suspensiones de bacterias, la ligadura y punción del ciego o la desvascularización de segmentos ileales, dan lugar a una infección aguda con una elevada mortalidad durante las primeras 72 h y posterior desaparición de la peritonitis en los animales que sobreviven. Estos modelos son útiles para el estudio de efectos sistémicos de la peritonitis y la influencia de los antibióticos. Los modelos diseñados para inducir una infección peritoneal moderada son más difíciles de conseguir[35].

Por otra parte, la administración intraabdominal de heces presenta variaciones impredecibles en la tasa de mortalidad por la falta de estandarización de las especies bacterianas que pueden encontrarse. También la ligadura y punción del ciego, así como la devascularización de segmentos ileales, dan lugar a una infección intraabdominal de gravedad impredecible con variabilidad de la peritonitis inducida debido a las diferencias individuales entre los animales en cuanto al contenido bacteriano cecal[36,37]. Esto hace que estos modelos sean fácilmente reproducibles desde el punto de vista técnico pero no en cuanto a la obtención de resultados. Así mismo, la administración de una suspensión de cultivos polimicrobianos a una dosis conocida permite controlar estas situaciones pero, como se ha mencionado, el resultado es una mortalidad precoz dependiente de la dosis. Un inconveniente de la inoculación mediante punción con aguja en la cavidad peritoneal es que no se controla la localización de la punta de la aguja y el inóculo puede ser inyectado en la pared abdominal, en el intestino o en otros órganos intraperitoneales (tabla IV).

Avances que ha supuesto el modelo en el conocimiento de la fisiopatología de las infecciones intraabdominales

La utilización de modelos experimentales de peritonitis ha sido muy útil en el estudio de la fisiopatología de las infecciones intraabdominales.

La caracterización de modelos de peritonitis ha permitido estudiar las fases iniciales en la evolución de una sepsis de origen abdominal[2,28,29,38-40].

Para definir los procesos implicados en la respuesta del peritoneo a una infección, diferentes investigadores han examinado las características anatómicas y la capacidad de defensa del peritoneo (tabla V)[3].

La superficie de la membrana peritoneal está compuesta por una línea de células mesoteliales situadas sobre una lámina basal pobremente definida y consistente en una estroma submesotelial con fibroblastos embebidos en una matriz colágena extracelular compuesta por colágeno tipo IV. A este nivel existen gran cantidad de capilares sanguíneos. El peritoneo que recubre la porción muscular del diafragma está interrumpido por un gran número de *gaps* (brechas, poros) intercelulares situados en el borde lateral de las células mesoteliales[41]. La ausencia en dicha localización de membrana basal permite la comunicación directa de estos *gaps* con los lagos linfáticos que circulan de forma paralela a la fibras musculares del diafragma y que drenarán a los conductos linfáticos a través de los ganglios linfáticos mediastínicos. El tamaño de estos poros aumenta en caso de peritonitis, facilitando el paso de bacterias o productos de las mismas (p. ej., endotoxina), así como de mediadores inflamatorios[11]. Diversos estudios experimentales han permitido estudiar esta vía de eliminación desde la cavidad peritoneal. Olofsson et al[42] observaron valores de endotoxina en el conducto torácico unas 400 veces más elevadas que en la sangre arterial y en la vena porta. En estos estudios la endotoxemia sis-

TABLA IV
VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS DIFERENTES MODELOS DE PERITONITIS

Modelo	*Ventajas*	*Inconvenientes*
Ligadura y perforación cecal	Modelo sencillo Reproduce el ambiente polimicrobiano	Inóculo no conocido Mayor variabilidad de la peritonitis Mortalidad precoz
Inoculación intraperitoneal de monocultivo bacteriano	Menor variabilidad de la peritonitis Inóculo conocido Menor mortalidad precoz	No reproduce el ambiente polimicrobiano
Implantación intraperitoneal de heces	Reproduce el ambiente polimicrobiano	Mayor dificultad de preparación No estandarización del contenido bacteriano Variabilidad de la mortalidad
Cápsulas de gelatina con cultivos bacterianos	Menor mortalidad precoz Inóculo conocido Reproduce el ambiente polimicrobiano	Mayor dificultad de preparación
Isquemia de un segmento intestinal	Reproduce el ambiente polimicrobiano	No estandarización del contenido bacteriano

TABLA V
MECANISMOS DE DEFENSA DEL PERITONEO

Tipo	*Descripción*
Innata	Actividad antibacteriana del líquido peritoneal, a través del complemento Absorción bacteriana a través de los estomas diafragmáticos Actividad fagocítica de los polimorfonucleares y los macrófagos Formación de abscesos Células *natural killer*
Específica	Producción de IgA Acumulaciones leucocitarias en el epiplón *(milky spots)* Linfocitos T memoria

Tomada de Heel[11].

témica fue paralela a la aparición de endotoxina en el conducto torácico, lo que apoya la hipótesis de que la endotoxemia está preferentemente mediada por el transporte linfático a partir de la cavidad peritoneal (fig. 1).

Otro sistema de defensa del peritoneo es el epiplón, que tiende a localizar la infección mediante su adhesión a los lugares que presentan inflamación o perforación. Está muy bien irrigado y contiene agregaciones celulares en su interior, conocidas con el nombre de *milky spots*, compuestas principalmente por macrófagos, además de polimorfonucleares y linfocitos. Durante la inflamación, su número y tamaño aumentan de forma significativa[11]. Este mecanismos justificaría el modelo de absceso intraperitoneal descrito por Guirao et al[34].

Dunn et al[3] observaron que los macrófagos y la absorción translinfática representan la primera línea de defensa de la cavidad peritoneal. Objetivaron que el aclaramiento de bacterias de la cavidad peritoneal es extremadamente rápido, con eliminación de un mayor número de microorganismos que a través de la fagocitosis. Sin embargo, también comprobaron que el sistema fagocitario quedaba saturado con dosis de bacterias menores que a través de la absorción translinfática. Estos fagocitos iniciales se considera que son los macrófagos intraperitoneales, cuyo número se mantiene relativamente constante y que ejercen esta función hasta la llegada de polimorfonucleares. El aumento de polimorfonucleares en la cavidad abdominal viene favorecido por la liberación de mediadores quimiotácticos (leucotrienos y citocinas) a partir de los macrófagos y células mesoteliales del peritoneo[43] y por el aumento de la permeabilidad inducido por la liberación de prostaglandinas con acción vasodilatadora (PGE_2 y PGI_2). Todo parece apuntar a que la secreción de mediadores inflamatorios por los

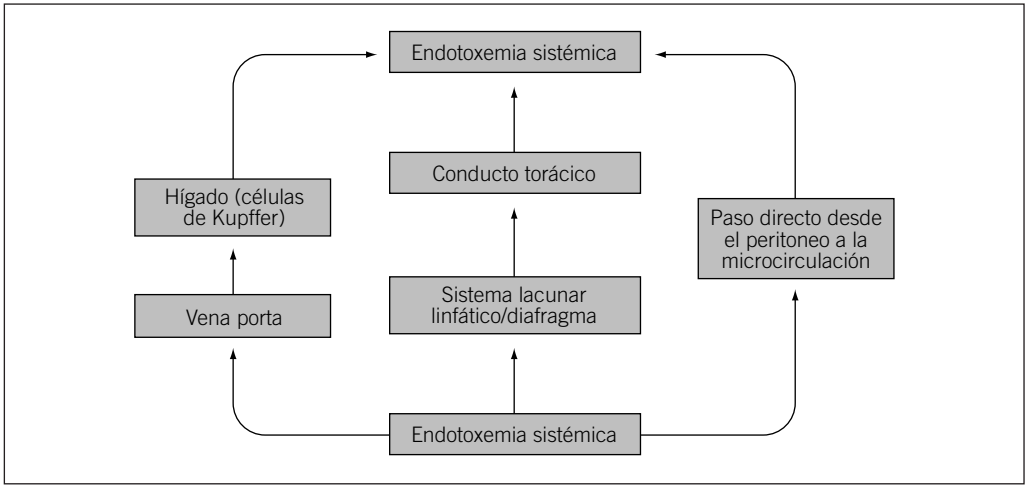

Fig. 1. Posibles rutas de transporte de la endotoxina desde el peritoneo a la circulación sistémica.

macrófagos conforma la respuesta inicial del huésped y que esta activación tiene lugar predominantemente en la membrana peritoneal, sin excluir el papel de los macrófagos del líquido peritoneal[43,44].

En la actualidad, diferentes autores orientan sus estudios a la identificación y valoración del papel que ejercen los diferentes mediadores liberados como respuesta a una infección intraabdominal y en los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios con el objetivo de examinar la producción de citocinas en el ratón sometido a una peritonitis. Seki et al[45], en un modelo experimental en ratón, han comprobado el papel crucial del interferón (IFN) gamma liberado por las células *natural killer* (NK) del hígado y de la interleucina 10 (IL-10), liberada por los macrófagos peritoneales en la cascada de acontecimientos que tienen lugar como respuesta a una peritonitis bacteriana.

Así mismo, también se valora el posible papel del óxido nítrico (NO), implicado en numerosos procesos fisiológicos y fisiopatológicos y cuya producción está regulada en la mayoría de casos por la actividad de la enzima NO-sintetasa (NOS). Mediante estudios inmunoquímicos se ha objetivado que los macrófagos son los mayores responsables de la expresión de la iNOS (isoforma de la enzima NO-sintetasa) en respuesta a la activación por endotoxina o citocinas[46], y su acción estaría también relacionada con los mecanismos de defensa del huésped[47-49]. Diferentes estudios experimentales apoyan la actividad antimicrobiana del NO y han objetivado que la inducción de iNOS por parte de la endotoxina y citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral [TNF], IL-1 e IL-6)[50] es muy eficaz. McMicking et al[51] observaron un deterioro de la respuesta a la infección con desarrollo de un shock endotóxico en ratones con deficiencia en la liberación de iNOS. Sin embargo, se han observado considerables diferencias en la regulación de la expresión de iNOS y su actividad en diferentes especies, existiendo cierto escepticismo en cuanto al papel de la iNOS en la defensa inmunitaria en el hombre.

Un aspecto importante a comentar y que ha llevado a la realización de un gran número de estudios es el fenómeno de la translocación bacteriana, entendida como el paso de bacterias localizadas en el tracto gastrointestinal a través de la mucosa intestinal hacia ganglios linfáticos mesentéricos y otros órganos. Si bien no es un modelo de peritonitis, sí que puede venir favorecida por ésta y puede mantener la situación de sepsis, además de producirse en otros cuadros clínicos o bien dar lugar a una peritonitis primaria en el cirrótico. Se han llevado a cabo diversos estudios experimentales con el objetivo de caracterizar este fenómeno, a menudo con resultados contradictorios[52-56].

Se ha constatado este hecho cuando se produce un síndrome compartimental abdominal con compromiso del flujo esplácnico, como ocurre en pacientes quirúrgicos graves, en traumatismos graves o en quemados, así como también en cuadros de peritonitis. Deitch et al[57], en un modelo experimental en ratón, objetivaron que la incidencia de translocación bacteriana estaba di-

rectamente relacionada con la presencia de endotoxina intraperitoneal y que este fenómeno era dependiente de la dosis. Por su parte, la reabsorción sistémica de esta endotoxina contribuye a la persistencia del cuadro según los estudios realizados por el grupo de Wilmore, en los que evidenciaron un incremento de la permeabilidad intestinal en presencia de endotoxina circulante[58].

Si bien no está todavía bien establecida la relevancia de la translocación bacteriana en la patogenia de la peritonitis espontánea; diferentes autores han objetivado una mayor frecuencia de translocación bacteriana en animales cirróticos que desarrollan peritonitis bacteriana espontánea respecto a los animales con líquido ascítico estéril[59,60]. Sin embargo, todavía son necesarios más estudios que confirmen esta asociación.

Se ha estudiado el papel del estado inmunitario en la translocación bacteriana. Berg et al[61] han objetivado que la inoculación de fármacos inmunosupresores favorece la translocación bacteriana a los ganglios linfáticos mesentéricos, bazo, hígado y riñón en un modelo experimental en ratón. Simmons et al[62] han valorado la importancia de la inmunidad mediada por células y en estudios experimentales en ratones; la estimulación de las células T con IL-2 daba lugar a una significativa reducción de la incidencia de translocación bacteriana a los ganglios linfáticos mesentéricos.

Avances que ha supuesto el modelo en la profilaxis y el tratamiento de las infecciones intraabdominales

Los estudios realizados por Weinstein et al en 1974[28,29] permitieron objetivar una evolución bifásica de la infección consistente en una fase inicial de peritonitis dependiente de los gérmenes aerobios y una segunda fase de absceso a expensas de gérmenes anaerobios. Los mismos autores[63] demostraron algo que otros autores han confirmado posteriormente: el hecho de que los antibióticos frente a gérmenes coliformes aerobios reducían la mortalidad en la fase de peritonitis, mientras que los antibióticos anaerobicidas disminuían la formación de abscesos de los supervivientes pero no la mortalidad. Aun existiendo esta distinción entre ambas fases, en estudios más recientes[64] se objetivó, sin embargo, que es necesaria la combinación de aerobios y anaerobios para que tenga lugar la formación de abscesos intraabdominales. Gracias a estos estudios sabemos que es preciso cubrir gérmenes aerobios y anaerobios si se desea que el tratamiento antibiótico de una infección intraabdominal sea efectivo.

Los diferentes modelos de peritonitis anteriormente mencionados han sido utilizados para evaluar diferentes regímenes antibióticos[16,65]. Almdahl et al[66] demostraron la importancia del soporte con sueroterapia en un modelo experimental de peritonitis en ratas en las que la administración de nutrición parenteral o suero glucosalino disminuía significativamente la mortalidad del 100 al 50 %. Así mismo, cuando administraban por vía intravenosa una pauta de antibioterapia combinada con tinidazol y cefotaxima reducía la mortalidad al 15 %, que fue casi nula cuando se asoció una nutrición parenteral.

Trabajos recientes se han centrado en el desarrollo de sustancias destinadas a la regulación de la respuesta del huésped. Las citocinas pueden ser bloqueadas por pretratamiento con anticuerpos neutralizadores específicos. Estudios iniciales en los que se han utilizado anti-TNF sugirieron que protegían a ratones y conejos frente a los efectos letales de lipopolisacáridos (LPS) y bacilos gramnegativos. Por contra, el papel clínico de la terapia anti-TNF en presencia de un foco séptico continuado continúa sin aclararse.

En muchos de los estudios experimentales publicados sobre los efectos beneficiosos del tratamiento con la antiendotoxina, anti-TNF, e IL-1ra, esta terapéutica se instauró inmediatamente antes o, como máximo, dentro de las 2 h de la administración de una dosis de LPS y el tiempo de la terapia fue crítico. No parece existir beneficio si se suministra después de desarrollarse todo el síndrome del shock séptico. El síndrome clínico del shock séptico es raramente el resultado de la liberación de una sola dosis masiva de endotoxina bacteriana. Los pacientes con sepsis poseen un foco continuo de infección desde el cual se liberan de forma intermitente endotoxina y bacteria. La terapia con antiendotoxina parece actuar protegiendo contra el efecto de subsiguientes episodios de endotoxemia y bacteriemia antes que influir directamente en las condiciones del paciente en el momento de la administración del anticuerpo.

Una de las complicaciones más frecuentes tras la realización de cirugía sobre un abdomen con peritonitis consiste en la infección de la herida quirúrgica. La profilaxis antibiótica ha reducido de forma importante su incidencia y diferentes estudios clínicos y experimentales han permitido valorar los posibles factores decisivos en la eficacia de dicha profilaxis como son la farmacocinética, el momento de administración o los valores en tejidos del antibiótico utilizado. Algunos auto-

res han valorado el papel de la administración tópica de antibióticos con el fin de contrarrestar la posibilidad de concentraciones infraterapéuticas de los antibióticos sistémicos, pero los resultados no han sido concluyentes, probablemente en relación con diferencias en la cantidad de contaminación bacteriana de la herida o la presión utilizada para la irrigación. Badía et al[67] valoraron el papel de la irrigación de la herida con suero fisiológico como tratamiento adyuvante a la profilaxis antibiótica en cirugía contaminada y objetivaron que el factor más determinante para la infección de la herida fue el número de bacterias presentes en los márgenes de la herida al final de la cirugía y que la irrigación que utilizaban conseguía una importante reducción del número de bacterias presentes en la pared abdominal con una disminución significativa del número de infecciones de la herida.

En cuanto a la posible influencia de la translocación bacteriana en el desarrollo de peritonitis bacterianas espontáneas en cirróticos, Casafont et al[60] han observado una mayor prevalencia de translocación bacteriana en ratas cirróticas con malnutrición, lo que favorecía el desarrollo de una peritonitis bacteriana espontánea. Si estos hallazgos se confirman en pacientes cirróticos, la mejoría de su estado nutricional podría disminuir, según los autores, la translocación bacteriana y, como resultado, dar lugar a una significativa reducción del riesgo de complicaciones infecciosas, especialmente la peritonitis bacteriana espontánea.

Nuevos planteamientos en la era laparoscópica

La aplicación de la laparoscopia en cirugía abdominal ha permitido comprobar que esta técnica ofrece una serie de ventajas clínicas que confluyen en la rápida recuperación del paciente. Puesto que la recuperación postoperatoria del paciente viene determinada por el grado de agresión inducido, la observación de una mejor recuperación postoperatoria en los pacientes sometidos a cirugía laparoscópica ha permitido establecer la hipótesis de que esta técnica conlleva un menor grado de agresión. Diferentes estudios han confirmado esta hipótesis a partir del estudio de la respuesta inflamatoria a través de la medición de las concentraciones de citocinas[68-73].

Una de las ventajas clínicas observadas en los pacientes sometidos a cirugía laparoscópica es una menor incidencia de complicaciones infecciosas, como se desprende del análisis de series amplias de pacientes intervenidos por laparoscopia. También se ha observado que la utilización de la cirugía laparoscópica en pacientes con una peritonitis establecida no incrementa la morbididad postoperatoria[74,75] y un reciente metaanálisis ha confirmado que la apendicectomía laparoscópica se acompaña de un significativo descenso de las complicaciones infecciosas respecto a la cirugía abierta. Por su parte, Miserez[76] y Lau[77] objetivaron una morbilidad similar y un menor requerimiento de analgesia en los grupos de pacientes sometidos a cirugía laparoscópica frente a laparotomía como tratamiento del ulcus péptico perforado. Estos hechos permiten suponer que la cirugía laparoscópica no comporta efectos indeseables en un ambiente séptico.

Diversos estudios experimentales han estudiado la respuesta a la infección intraabdominal tras cirugía laparoscópica respecto a la cirugía abierta. Dos hechos relevantes que distinguen la cirugía laparoscópica de la convencional son la obtención de un espacio de trabajo mediante la realización de un neumoperitoneo y la utilización de CO_2 para obtenerlo. Varios estudios han valorado el efecto del CO_2 sobre una infección intraabdominal establecida. Jacobi et al[78], en un modelo de peritonitis en rata, no objetivaron un incremento de la bacteriemia y de la formación intraperitoneal de abscesos tras laparoscopia en comparación con la laparotomía.

Nuestro grupo analizó la respuesta precoz a la contaminación peritoneal basándonos en la hipótesis de que la menor agresión quirúrgica y la mayor preservación de la integridad del peritoneo durante la cirugía laparoscópica respecto a la cirugía abierta conllevaría una mejor respuesta inicial a la infección peritoneal[79]. Esta hipótesis se confirmó al valorar los resultados obtenidos en los grupos a los que se indujo una contaminación abdominal, ya que los grupos de animales sometidos a una laparotomía presentaron un recuento de UFC/ml peritoneal significativamente superior, así como también un mayor porcentaje de hemocultivos positivos, tanto a las 24 h como a las 72 h respecto a los grupos laparoscópicos. Al estudiar la respuesta inflamatoria en estos grupos también observamos un aumento significativo de las concentraciones de citocinas en los grupos sometidos a cirugía abierta, tanto locales como sistémicas.

También se ha valorado el posible efecto lesivo de la presión intraabdominal elevada, y aunque Eleftheriadis et al[80] demostraron en un estudio experimental con ratas que la presión intraabdominal elevada (15 mmHg) daba lugar a una isquemia intestinal, con producción de radi-

cales libres de oxígeno e incremento de la translocación bacteriana, otros autores no han objetivado diferencias en la bacteriemia y la difusión hematógena de endotoxinas entre ambas técnicas aplicadas a modelos experimentales de peritonitis[78,81,82]. El nivel de presión intraabdominal utilizado puede justificar las diferencias obtenidas por Eleftheriadis. Se puede sugerir que una presión intraabdominal excesiva dé lugar a alteraciones de la circulación esplácnica y sistémica que justifiquen los hallazgos de Eleftheriadis, pero no es la situación habitual en la práctica clínica.

Por otra parte, tras la realización de una intervención quirúrgica existe un grado de inmunodepresión proporcional a la agresión provocada y que puede valorarse a través del estudio de algunos de sus componentes. Diversos autores[83,84] han estudiado la actividad de los macrófagos y de los linfocitos T, y han observado que tras la cirugía laparoscópica existe una mayor preservación de la capacidad fagocítica y de presentación del antígeno por parte del macrófago respecto a la cirugía abierta. En el caso de una contaminación intraabdominal, el déficit de capacidad fagocitaria producido favorecerá la proliferación bacteriana.

Bessler et al[85] estudiaron la función inmunitaria dependiente de los linfocitos T a través de la medición de la hipersensibilidad retardada, observando una función inmunitaria mejor preservada tras la cirugía laparoscópica.

Por otra parte, algunos autores consideran un posible efecto bacteriostático del CO_2 a partir de estudios en los que se objetivó un enlentecimiento del crecimiento de las bacterias sometidas a una atmósfera de CO_2.

Otros autores consideran que la ausencia del aire ambiente durante la laparoscopia ejercería un papel protector contra la infección intraabdominal.

Evrard et al[86] valoraron la posible influencia del CO_2 en la inmunidad celular tanto sistémica como peritoneal. Partiendo de la base de que la disminución del pH tiene efectos adversos sobre la viabilidad de los linfocitos T y que el pH está en gran parte regulado por la presión parcial de CO_2, estudiaron los efectos del neumoperitoneo con CO_2 sobre los linfocitos peritoneales sin objetivar diferencias en la viabilidad de los mismos antes y después del neumoperitoneo. Todo ello podría justificarse por un incremento en la producción local de bicarbonato.

Miner y Levine[87] no encontraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano de las condiciones atmosféricas existentes durante la laparoscopia. En cambio, Collet[88], en un estudio experimental realizado en el cerdo, demostró que el aclaramiento intraabdominal de *E. coli* tras su instilación era superior tras la insuflación de CO_2 respecto a la laparotomía. Así mismo, Champault et al[89] observaron un enlentecimiento del crecimiento bacteriano cuando sometieron colonias de *E. coli* y *S. aureus* a una atmósfera de CO_2.

En conclusión, la cirugía laparoscópica permite mantener una mejor respuesta a la infección intraabdominal como consecuencia de un conjunto de factores entre los que destaca la preservación de la integridad funcional peritoneal, así como de la función inmunitaria y de la respuesta inflamatoria[90].

BIBLIOGRAFÍA

1. Giercksky KE, Lundblad R. Animal models of intra-abdominal sepsis. En: Jeppsson B, editor. Animal modelling in surgical research. Malmö University Hospital, Lund University, Sweden. Harwood Academic Publishers, 11: 143-154.
2. Lang CH, Bagby GJ, Bornside GH, Vial LJ, Spitzer JJ. Sustained hypermetabolic sepsis in rats: characterization of the model. J Surg Res 1983; 35: 201-210.
3. Dunn DL, Barke RA, Ewald DC, Simmons RL. Macrophages and translymphatic absorption represent the first line of host defense of the peritoneal cavity. Arch Surg 1987; 122: 105-110.
4. Muscatello G. Ueber den Bau und das Aufsangungsvermoegen des Peritonaeum. Arch Pathol Anat 1895; 142: 327-359.
5. Durham HE. The mechanism of reaction to peritoneal infection. J Pathol Bacteriol 1897; 4: 338-382.
6. Florey H. Reactions of, and absorption by, lymphatics, with special reference to those of the diaphragm. Br J Exp Pathol 1927; 28: 479-490.
7. Allen L, Vogt E. A mechanism of lymphatic absorption from serous cavities. Am J Physiol 1937; 119: 776-782.
8. Allen L, Weatherford T. Role of fenestrated basement membrane in lymphatic absorption from peritoneal cavity. Am J Physiol 1959; 197: 551-554.
9. Higgins GM. Phrenic nephrectomy and peritoneal absorption. Am J Pathol 1930; 45: 137-157.
10. Steinberg B. Infections of the peritoneum. Nueva York: Paul B. Hoeber Inc., 1944; 30.
11. Heel KA, Hall JC. Peritoneal defences and peritoneum-associated lymphoid tissue. Br J Surg 1996; 83: 1.031-1.036.
12. Andersen OK. The influence of *Escherichia coli* endotoxin and trauma on some aspects of host defence [tesis doctoral]. Noruega: Dpt. of Surgery, University of Tromso, 1986.
13. Diebel LN, Dulchavsky SA, Wilson RF. Effect of increased intra-abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow. J Trauma 1992; 33: 45-49.

14. Germann R, Haisjackl M, Schwarz B, Deusch E, Meusburger S, Gruber E et al. Inotropic treatment and intestinal mucosal tissue oxygenation in a model of porcine endotoxemia. Crit Care Med 1997; 25: 1.191-1.197.
15. Andersson R, Tranberg KG, Alwmark A, Bengmark S. Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* peritonitis in rats. Acta Chir Scand 1989; 155: 155-157.
16. Lahnborg G, Heström KG, Nord CE. Efficacy of different antibiotics in the treatment of experimentally induced intra-abdominal sepsis. J Antimicrobial Chemotherapy 1982; 10: 497-504.
17. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N, Sarris K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. World J Surg 1996; 20: 11-16.
18. Nordstrand K. Mortality in rats on long-term parenteral nutrition. Eur Surg Res 1989; 19: 40-52.
19. Pedersen P, Biber B, Martinell S, Seeman T, Hasselgren PO. Hemodynamic and hematologic changes in a standardized trauma-sepsis model in rats. Circ Shock 1984; 14: 13-23.
20. Albrecht I. Arterial pressure, cardiac output and systemic resistance before and after pithing in normotensive and spontaneously hypertensive rats. Acta Physiol Scand 1975; 94: 378-385.
21. Idvall J, Aronsen KF, Nilsson L, Nosslin B. Evaluation of the microsphere method for determination of cardiac output and flow distribution in the rat. Eur Surg Res 1979; 11: 423-433.
22. Saldéen T, Linder E. A method for long-term collection of lymph from the thoracic duct in rats. Acta Pathol 1960; 49: 433-437.
23. Robinson KM, Miller HI. Free fatty acid turnover and oxidation after burn shock in guinea-pigs. Circ Shock 1981; 8: 283-290.
24. Ryan NT, Balckburn GL, Glowe GH. Differential tissue sensitivity to elevated endogenous insulin levels during experimental peritonitis in rats. Metabolism 1974; 23: 1.081-1.089.
25. Chaudry IH, Wichterman KA, Baue AE. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels. Surgery 1979; 85: 205-211.
26. Kreger BE, Craven DE, Carling PC, McGabe WR. Gram-negative bacteremia. III. Reassessment of etiology, epidemiology and ecology in 612 patients. Am J Med 1980; 68: 332.
27. Rotstein OD, Kao J. The spectrum of *Escherichia coli-Bacteroides fragilis* pathogenic synergy in an intra-abdominal infection model. Can J Microbiol 1988; 34: 352-357.
28. Weinstein WM, Onderdonk AB, Bartlett JG, Gorbach SL. Experimental intra-abdominal abscesses in rats: development of an experimental model. Infect Immun 1974; 10: 1.250-1.255.
29. Onderdonk AB, Weinstein WM, Sullivan NM, Bartlett JG, Gorbach SL. Experimental intra-abdominal abscesses in rats: quantitative bacteriology of infected animals. Infect Immun 1974; 10: 1.256-1.259.
30. Nichols RL, Smith JW, Balthazar ER. Peritonitis and intraabdominal abscess: an experimental model for the evaluation of human disease. J Surg Res 1987; 25: 129-134.
31. Hansson L, Alwmark A, Christensen P, Jeppsson B, Holst E, Bengmark S. Standarized intraabdominal abcess formation with generalized sepsis: pathophysiology in the rat. Eur Surg Res 1985; 17: 155-159.
32. Rink RD, Short BL, Van N, Fry DE. Role of colonic bacteria in the pathophysiology of fecal peritonitis. Circ Shock 1977; 4: 259-270.
33. Oloffson P, Nylander G, Olsson P. Endotoxin-transport routes and kinetics in intestinal ischemia. Acta Chir Scand 1986; 151: 635-640.
34. Guirao X, García-Domingo M, Lladó L, Franch-Arcas G, Oliva A, Muñoz A, Sitges-Serra A. A new model of intraabdominal abscess: usefulness for hydrosaline metabolism studies in parenteral nutrition associated with sepsis. J Surg Res 1995; 59: 658-665.
35. Hesp WLEM, Hendriks T, Lubbers EJC, De Boer HHM. A reproducible model for protracted peritonitis in the rabbit. Eur Surg Res 1984; 16: 317-321.
36. Balish E, Cleven D, Brown J Yale CE. Note, throat, and fecal flora of beagle dogs housed in “locked” or “open” environments. Appl Environ Micro 1977; 34: 207.
37. Holdeman LV, Good IJ, Moore WEC. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress. Appl Environ Micro 1976; 31: 359.
38. Clowes GH, O’Donnell TF, Ryan NT, Blackburn GL. Energy metabolism in sepsis: treatment based on different patterns in shock and high output stage. Ann Surg 1974; 179: 684.
39. Nichols RL, Smith JW, Balthazar ER. Peritonitis and intraabdominal abscess: an experimental model for the evaluation of human disease. J Surg Res 1978; 25: 129.
40. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock. A review of laboratory models and a proposal. J Surg Res 1980; 29: 189.
41. Abu-Hijleh MF, Habbal OA, Moqattash ST. The role of the diaphragm in lymphatic absorption from the peritoneal cavity. J Anat 1995; 186: 453-467.
42. Olofsson P, Nylander G, Olsson P. Endotoxin: routes of transport in experimental peritonitis. Am J Surg 1986; 151: 443-446.
43. Topley N, Williams JD. Role of the peritoneal membrane in the control of inflammation in the peritoneal cavity. Kidney Int 1994; 46 (Supl): 71-78.
44. Topley N. The host’s initial response to peritoneal infection: the pivotal role of the mesothelial cell. Peritoneal Dialysis Int 1995; 15: 116-117.
45. Seki S, Osada S, Ono S, Aosasa S, Habu Y, Nishikage T et al. Role of liver NK Cells and peritoneal macrophages in gamma-interferon and interleukin-10 production in experimental bacterial peritonitis in mice. Infect Immun 1998; 66: 5286-5294.
46. Lorente JA, Landín L, De Pablo R, Renes E, Liste D. L-arginine pathway in the sepsis syndrome. Crit Care Med 1993; 21: 1.287-1.295.
47. Morales-Ruiz M, Jiménez W, Ros J, Solé M, Leivas A, Bosch-Marcé M et al. Nitric oxide production by

peritoneal macrophages of cirrhotic rats: a host response against bacterial peritonitis. Gastroenterology 1997; 112: 2.056-2.064.
48. McMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. Ann Rev Immunol 1997; 15: 323-350.
49. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. J Vasc Res 1994; 31: 131-143.
50. Stuehr DJ. Structure-function aspects in nitric oxide synthases. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1997; 37: 339-359.
51. McMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M et al. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. Cell 1995; 81: 641-650.
52. Berezi I, Bertok L, Baintner K, Veress B. Failure of oral *Escherichia coli* endotoxin to induce either specific tolerance or toxic symptoms in the rat. J Pathol Bacteriol 1968; 96: 481-486.
53. Jacob A, Goldberg P, Bloom N, Degenshein A, Kozinn P. Endotoxin and bacteria in portal blood. Gastroenterology 1977; 72: 1.268-1.270.
54. Nolan JP, Hare DK, McDevitt JJ, Ali MV. *In vitro* studies of intestinal endotoxin absorption. Gastroenterology 1977; 72: 434-439.
55. Prytz H, Holst-Christensen J, Korner B, Liehr H. Portal venous and endotoxemia in patients without liver disease and systemic endotoxemia in patients with cirrhosis. Scand J Gastroenterol 1976; 11: 857-863.
56. Triger DR, Boyer TD, Levin J. Portal and systemic bacteremia and endotoxemia in liver disease. Gut 1978; 19: 935-939.
57. Deitch EA, Berg A, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg 1987; 122: 185-190.
58. O'Dwyer ST, Michie HR, Ziegel TR, Revhaug A, Smith RJ, Wilmore DW. A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans. Arch Surg 1988; 123: 1.459-1.464.
59. Runyon BA, Squier S, Borzio M. Translocation of gut bacteria in the rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis. J Hepatol 1994; 21: 792-796.
60. Casafont F, Sánchez E, Martín L, Agüero J, Pons F. Influence of malnutrition on the prevalence of bacterial translocation and spontaneous bacterial peritonitis in experimental cirrhosis in rats. Hepatology 1997; 25: 1.334-1.337.
61. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of mice receiving immunosuppressive chemotherapeutic agents. Curr Microbiol 1983; 8: 285-292.
62. Maddans MA, Wells CL, Platt JL, Condie RM, Simmons RL. Effect of T cell modulation on the translocation of bacteria from the gut and mesenteric lymph node. Ann Surg 1988; 207: 387-398.
63. Weinstein WM, Onderdonk AB, BartlettJG, Louie TJ, Gorbach SL. Antimicrobial therapy of experimental intraabdominal sepsis. J Infect Dis 1975; 3: 282-286.
64. Batlett JG, Onderdonk AB, Louie TJ, Kasper DL, Gorbach SL. Lessons from an animal model of intra-abdominal sepsis. Surgery 1978; 113: 853-857.
65. Bartlett JG, Louie TJ, Gorbach SL, Onderdonk AB. Therapeutic efficacy of 29 antimicrobial regimens in experimental intra-abdominal sepsis. Rev Infect Dis 1981; 3: 535-542.
66. Almdahl SM, Nordstrand K, Melby K, Osterud B, Giercksky KE. Faecal peritonitis in the rat. An experimental model for evaluation of surgical and adjuvant therapies. Acta Chir Scand 1985; 151: 213-216.
67. Badía JM, Torres JM, Tur C, Sitges-Serra A. Saline Wound irrigation reduces the postoperative infection rate in guinea pigs. J Surg Res 1996; 63: 457-459.
68. Joris J, Cigarini I, Legrand M. Metabolic and respiratory changes after cholecystectomy performed via laparotomy or laparoscopy. Br J Anaesth 1992; 69: 341.
69. Jakeways MS, Mitchell V, Hashim IA, Chadwick SJ, Shenkin A, Green CJ et al. Metabolic and inflammatory responses after open or laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg 1994; 85: 127.
70. Tada M, Murata N, Odaka A, Kobayashi M. The change of serum interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist after laparoscopic or conventional cholecystectomy [resumen]. Surg Endosc 1994; 8: 638.
71. Targarona EM, Pons MJ, Balagué C, Espert JJ, Moral A, Martínez J et al. Acute phase: only significantly reduced component of the injury response after laparoscopic cholecystectomy. World J Surg 1996; 20: 528-533.
72. Bellón JM, Manzano L, Bernardos L, García-Honduvilla N, Larrad A, Buján J, Álvarez-Mon M. Cytokine levels after open and laparoscopic cholecystectomy. Eur Surg Res 1997; 29: 27-34.
73. Bolufer JM, Delgado F, Blanes F, Martínez-Abad M, Canos JI, Martín J et al. Injury in laparoscopic urgery. Surg Lap Endosc 1995; 5: 318-323.
74. Balique JG, Guinot R, Mondesert C, Mortier L. Etude comparative rétrospective de 600 appendicectomies effectuées par laparotomie (McBurney) ou laparoscopie. Chirurgie 1994; 119: 504-510.
75. Neugebauer E, Troidl H, Kum CK, Eypasch E, Miserez M, Paul A. The EAES Consensus Development Conferences on laparoscopic cholecystectomy, appendectomy, and hernia repair. Surg Endosc 1995; 9: 550-563.
76. Miserez M, Eypasch E, Spangenberger W, Lefering R, Troidl H. Laparoscopic and conventional closure of perforated peptic ulcer. A comparison. Surg Endosc 1996; 10: 831-836.
77. Lau WY, Leung KL, Kwong KH, Davey C, Robertson Ch, Dawson JJW et al. A randomized study comparing laparoscopic versus open repair of perforated peptic ulcer using suture or sutereless technique. Ann Surg 1996; 2: 131-138.
78. Jacobi CA, Ordemann J, Böhm B, Zieren HU, Volk HD, Lorenz W et al. Does laparoscopy increase bac-

teremia and endotoxemia in a peritonitis model? Surg Endosc 1997; 11: 235-238.
79. Balagué C, Targarona EM, Trias M. Cirugía laparoscópica e infección quirúrgica. Cir Esp. En prensa.
80. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N, Sarris K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. World J Surg 1996; 20: 11-16.
81. Gurtner GC, Robertson CS, Chung SC, Ling TKW, Ip SM, Li AKC. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteraemia and endotoxaemia in an animal model of peritonitis. Br J Surg 1995; 82: 844-848.
82. Dugne L, Fritsch S, Felten A, Gossot D, Colomer S, Celerier M et al. Effets de l'insufflation intra-péritonéale sur la dissémination hématogène des infections abdominales. Résultats préliminaires d'une étude expérimentale chez le rat. Ann Chir 1995; 49: 423-426.
83. Griffith J, Sue-Ling N, Everitt A, Boylston A, Johnston D, McMahon MJ. Absence of postoperative inmunosupression after laparoscopic surgery. Gut 1992; 33 (Supl 1): 25.
84. Anónimo. Postoperative inmunosupression. Laparoscopic versus open cholecystectomy [resumen 190]. Bordeaux: Proceedings of the III World Congress of Endoscopic Surgery, junio de 1992.
85. Bessler M, Whelan RL, Halverson A, Treat MR, Nowygrod R. Is immune function better preserved after laparoscopic versus open colon resection? Surg Endosc 1994; 8: 881-883.
86. Evrard S, Falkenrodt A, Park A, Tassetti V, Mutter D, Marescaux J. Influence of CO_2 pneumoperitoneum on systemic and peritoneal cell-mediated immunity. World J Surg 1997; 21: 353-357.
87. Miner DW, Levine RL. Microbiologic effects of atmospheric conditions used in operative laparoscopy. J Repr Med 1993; 38: 531-533.
88. Collet D, Reynolds MA, Klar E, Siow Y, Trachtenberg L, Vitale G. Intra-abdominal clearance after either laparoscopic or open surgery. An experimental study (RES). Surg Endosc 1994; 8: 505.
89. Champault G, Cruaud P, Guillon P, Taffinder N. Is carbon dioxide responsible for the reduction in postoperative infections following laparoscopic surgery?. Eur J Coelio Surg 1997; 3: 31-34.
90. Balagué C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. Surg Endosc 1999; 13: 792-796.

DISCUSIÓN

J.M. Miró: A raíz de los resultados presentados, una conclusión sería que a menor agresividad, como es el caso de la laparoscopia, menor respuesta inflamatoria y por tanto esto favorece que haya menos infección intraabdominal en el modelo experimental, contrariamente a lo que ocurriría con la laparotomía, que produce mucha más agresividad quirúrgica y mucha mayor respuesta inflamatoria.

M.C. Balagué: Sí, tanto los modelos experimentales como clínicos han constatado que la respuesta inflamatoria es menor con la laparoscopia. Aunque también hay que tener en cuenta otros factores. Se ha observado que mediante este tipo de abordaje quirúrgico también está más preservada la inmunidad. Concretamente en casos de peritonitis se ha constatado una mejor capacidad fagocitaria de los macrófagos tras cirugía laparoscópica que tras cirugía abierta. Además, la menor lesión y desecación a nivel de la cavidad abdominal producida por esta técnica permiten una mejor preservación de los mecanismos locales de defensa y, en consecuencia, una mayor efectividad en la eliminación de bacterias a nivel peritoneal.

P.J. Cardona: Sin embargo, las concentraciones de TNF y de IL-1 no varían significativamente.

M.C. Balagué: Sí que se observó cierto incremento superior de IL-1 con la laparotomía respecto a la laparoscopia. Sin embargo, los resultados más evidentes se obtienen con IL-6 y con proteína C reactiva. Aunque otros autores han demostrado una mayor elevación del TNF en pacientes intervenidos por laparotomía, nuestros datos al respecto fueron muy variables y no pudimos llegar a unas conclusiones claras.

J.M. Gatell: Si se atribuye una mayor tasa de infecciones a una respuesta inflamatoria más importante, ¿existe algún estudio con laparotomía que compare la respuesta al inóculo con la respuesta al inóculo junto con fármacos antiinflamatorios?

M.C. Balagué: En la revisión bibliográfica sobre el tema, no he encontrado ningún modelo con administración de antiinflamatarios. Sin embargo, se dispone de estudios que valoran la eficacia terapéutica de sustancias anti-TNF y de antagonista o anticuerpos frente al receptor de la IL-1, con las cuales se ha observado una disminución de la respuesta a la infección. Sin embargo, desde el punto de vista terapéutico estos estudios tenían poco valor, puesto que las sustancias debían administrarse inmediatamente antes de la infección o de forma simultánea, mientras que con su empleo posterior ya no eran efectivas.

J.M. Miró: Muchos de nosotros somos clínicos o microbiólogos y, por tanto, un objetivo para no-

sotros sería disponer de un modelo para la prevención o el tratamiento de las infecciones intraabdominales. Basándoos en vuestra experiencia, ¿cuál de los seis modelos descritos crees que reúne las mejores condiciones para poder evaluar la eficacia del tratamiento de la infección intraabdominal?

M.C. Balagué: Creo que la utilización de las cápsulas de gelatina con suspensiones de *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* es la que reúne las mejores condiciones. Considero que es el modelo que más se aproxima a la situación real, fácilmente controlable y con mayor uniformidad en cuanto a la obtención de resultados, a diferencia de otros modelos muy empleados como el de la ligadura y perforación cecal en los cuales no se controla el inóculo.

J. Pachón: En el modelo de la cirugía laparoscópica, la presión del gas que se introduce, ¿modifica la bacteriemia o la evolución de la infección?

M.C. Balagué: Nosotros no observamos cambios. Algunos autores, como Eleftheriadis han descrito que presiones intraabdominales elevadas, de unos 15 mmHg en ratas, producían una mayor absorción translinfática y un mayor porcentaje de hemocultivos positivos. Sin embargo, otros grupos como el de Jacobi, también en rata y con presiones intraabdominales más bajas, por debajo de 10 mmHg. no observaron incrementos en la absorción intraperitoneal. Este último modelo se ajusta más a lo que nosotros utilizamos en clínica, en lo que a presiones intraabdominales se refiere. De todas formas, los estudios experimentales llevados a cabo hasta la fecha obtienen resultados contradictorios, en parte por la utilización de diferentes modelos de infección (con mayor o menor agresividad) o diferentes presiones intraabdominales. En la clínica diaria, todavía no hay resultados definitivos sobre el efecto del pneumoperitoneo en pacientes con peritonitis graves y/o shock séptico. En estos casos, probablemente deberemos recurrir a utilizar bajas presiones.