

## Autoinjertos esplénicos. Su influencia en la prevención de sepsis postesplenectomía por *Escherichia coli*

L. C. Capitán Morales, M. C. García Iglesias, F. García Díaz, A. Jiménez García, J. Cantillana Martínez y J. Loscertales Abril

Departamento de Cirugía (Prof. J. Loscertales Abril). Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Sevilla.

**Palabras clave:** Autoinjertos esplénicos. Sepsis postesplenectomía. Preservación esplénica. Esplenectomías.

### Resumen

Se presenta un estudio experimental de la eficacia de autoinjertos esplénicos frente a una sepsis inducida por *Escherichia coli*. Se han intervenido 75 ratas Wistar distribuidas en tres grupos: I) intervención simulada; II) esplenectomía total, y III) autoinjerto esplénico. A los noventa días de la intervención se efectuó una inoculación con el microorganismo realizando hemocultivos a los diez y ciento veinte minutos. Los resultados muestran que el aclaramiento bacteriano no aumentó en los animales autoinjertados, siendo los trasplantes ineficaces para combatir una sepsis por *Escherichia coli*.

### Abstract

Presentation of an experimental study on the effectiveness of splenic autografts in sepsis induced by *Escherichia coli*. 75 Wistar rats were operated upon, divided into 3 groups: I) simulated operation, II) total splenectomy and III) splenic autograft. 90 days after the operation, an inoculation was performed with the microorganism, with haemocultures at intervals of 10 and 20 minutes. The results showed that bacterial rinsing was not increased in the autografted animals, and the transplants were ineffective in preventing sepsis due to *Escherichia coli*.

### Zusammenfassung

Die Verf. berichten über eine experimentelle Studie über die Wirksamkeit von splenischen Autotransplantationen ge-

genüber einer durch *Escherichiae coli* verursachten Sepsis. Sie haben eine Intervention bei 75 Wistarratten vorgenommen, die auf drei Gruppen verteilt wurden: I) zum Schein durchgeführte Intervention; II) totale Splenektomie, und III) splenische Autotransplantation. 90 Tage nach der Intervention erfolgte eine Inokulierung mit dem Mikroorganismus und es wurden Hämokulturen nach Ablauf von 10 und 120 Minuten durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass die bakterielle Klärung bei den Tieren mit einer Autotransplantation nicht erhöht wurde, und dass die Transplantationen für die Bekämpfung einer Sepsis auf Grund von *Escherichiae coli* unwirksam waren.

### Résumé

Nous présentons une étude expérimentale de l'efficacité des autogreffes spléniques face à une sepsie induite par *Escherichia coli*. 75 rats Wistar réparties en trois groupes furent opérés: I) Intervention simulée; II) splénectomie totale et III) autogreffe splénique. 90 jours après l'intervention on pratique une inoculation avec le microorganisme en réalisant des hémocultures après 10 et 120 minutes. Les résultats montrent que l'éclaircissement bactérien n'a pas augmenté chez les animaux autogreffés les greffes sont inefficaces pour combattre une sepsie par *Escherichia Coli*.

### Introducción

Desde que en 1952 Kin y Shumacker<sup>1</sup> informaron de sepsis postesplenectomía en niños, los cirujanos han ideado diversos métodos de conservación esplénica cuando se hace necesaria la resección del bazo por motivos traumatológicos o desórdenes hematológicos.

Recibido: VI/88.

Correspondencia: Dr. L. C. Capitán Morales.  
Departamento de Cirugía.  
Hospital Universitario Virgen de la Macarena.  
Sevilla.

La capacidad de los autoinjertos del bazo para regenerarse en el abdomen de animales de laboratorio fue observada hace sesenta años por Manley y Mariné<sup>2</sup>. Posteriormente se demostró que dichos trasplantes eran funcionantes en esplenectomizados a nivel experimental<sup>2</sup>.

El objetivo del presente estudio ha sido el determinar si un autoinjerto esplénico confiere alguna diferencia ante una sepsis inducida experimentalmente con *Escherichia coli*, patógeno encapsulado, frente a animales esplenectomizados totalmente o normales.

## Material y métodos

### Material

Para su análisis lo hemos dividido en:

a) Animales. b) Cepa bacteriana. c) Densidad de inóculo bacteriano. d) Muestras procesadas para análisis y recuento microbiológico. e) Medios de cultivo empleados.

a) *Animales*: El presente estudio experimental lo hemos realizado con un total de 75 ratas blancas, raza Wistar, hembras, de 200 g de peso medio. Dichos animales se mantenían durante las cuarenta y ocho horas previas a la intervención en ayunas, permitiéndoles el agua «ad libitum». A las veinticuatro horas del acto quirúrgico se reiniciaba la alimentación habitual de la rata.

El total de los 75 animales se distribuyó en tres grupos de 25 animales de la siguiente manera:

Grupo I: Intervención simulada.

Grupo II: Esplenectomía total.

Grupo III: Autoinjerto esplénico.

b) *Cepa bacteriana*: La cepa utilizada fue *Escherichia coli* 20034 HUS encapsulado, probada su capacidad patógena, habiéndose aislado de la sangre de un paciente hospitalizado en el Hospital Universitario de la Facultad de Medicina de Sevilla.

c) *Densidad del inóculo bacteriano*: El inóculo administrado a los animales del estudio fue en 1 ml de solución salina el *E. coli* con turbidez igual al número 1 de la escala de McFarland, lo que equivalía a  $3 \times 10^8$  unidades formadoras de colonias. Dicho inóculo lo inyectamos por vía intraperitoneal a los noventa días de practicada la intervención.

d) *Muestras procesadas para estudio microbiológico*: Por cada animal, las muestras tomadas de forma estéril y posteriormente procesadas fueron dos:

— 1 cc de sangre extraído por punción cardíaca a los diez minutos de la administración del inóculo.

— 1 cc de sangre extraído de igual forma a los ciento veinte minutos.

e) *Medios de cultivo empleados*:

1. *Tripticasa de soja-agar* en estado líquido a temperatura de 45° C para realizar las placas que posteriormente se solidificaban, permitiendo el recuento bacteriano en superficie y profundidad del medio.

2. *Agar-sangre*: medio enriquecido para el aislamiento de todo tipo de microorganismos.

3. *Levine*: medio selectivo para favorecer el aislamiento de *Escherichia coli*.

4. *Tioglicolato*: medio líquido enriquecido que nos permitía igualmente el aislamiento de *Escherichia coli* e incluso en aquellas muestras en que el porcentaje de microorganismos era muy bajo.

### Métodos

1. *Métodos anestésicos*: Todos los animales fueron anestesiados con la misma técnica antes de la intervención quirúrgica mediante la inyección intraperitoneal de *hetamina* a una dosis de 0,3 cc por cada 100 g de peso.

2. *Métodos quirúrgicos*:

*Grupo I: Intervención simulada*. En este grupo se practicó una laparotomía media, al igual que en todos los animales. Posteriormente se practicó una exteriorización y manipulación de las asas intestinales y del bazo, procediendo después al cierre cavitario.

*Grupo II: Esplenectomía total*. Comenzamos la intervención con igual técnica que en el grupo anterior. Tras seccionar el ligamento esplenorrenal efectuamos una luxación del bazo y esplenectomía, previa hemostasia de todos los vasos esplénicos.

*Grupo III: Autoinjerto esplénico*. Tras practicar la esplenectomía total seccionábamos una porción correspondiente a un 50 % aproximadamente de la porción central del bazo, que introducíamos en cavidad peritoneal, habiendo sido rodeado previamente en su totalidad por epiplón.

3. *Métodos microbiológicos*: A los noventa días de la intervención se inoculaba el *Escherichia coli* y se procedía a la extracción de sangre por punción cardíaca percutánea a los diez y ciento veinte minutos.

Estas muestras eran cultivadas en los medios anteriormente descritos, consiguiendo efectuar determinaciones cuantitativas de los mismos.

4. *Métodos estadísticos*: Realizamos con todos los resultados de cada uno de los parámetros un *análisis de la varianza* con objeto de comprobar si existían diferencias entre los distintos grupos.

Asimismo estudiamos la interrelación entre pares de resultados mediante un estudio de *correlación de rangos de Spearman* y analizamos su nivel de significación para determinar cuáles tenían diferencias estadísticas.

5. *Estudios de mortalidad:* Para determinar la supervivencia de los animales después de la inoculación bacteriana realizamos un estudio de mortalidad. Para ello, a cinco ratas por cada grupo de intervención, después de inyectarles el microorganismo, las mantuvimos observando cada doce horas durante quince días, apreciando las muertes producidas.

**Resultados**

*Grupo I: Intervención simulada.* De los 20 animales que se utilizaron para el estudio microbiológico sobrevivieron sólo 16 a los noventa días. Dos de las muertes ocurrieron en el postoperatorio inmediato y dos posteriormente, sin causa aclarada. De estos 16 animales fallecieron en la anestesia previa al inóculo dos de ellos, mientras que otros cuatro fallecieron tras la obtención del primer hemocultivo.

Los resultados de los hemocultivos practicados a los diez y ciento veinte minutos se muestran en las tablas I y II, respectivamente.

*Mortalidad:* Como en todos los grupos, se estudiaron cinco animales. Tan sólo fallecieron dos, de los cuales uno murió a las veinticuatro horas y otro a las cuarenta y ocho horas.

*Grupo II: Esplenectomía total.* De los 20 animales sobrevivieron a los noventa días 19 de ellos, muriendo uno en el postoperatorio inmediato. Los resultados obtenidos en este grupo se muestran en las tablas III y IV.

*Mortalidad:* Durante los quince días del período de observación tras la inoculación de los cinco animales no falleció ninguno.

**Tabla I**  
**Grupo I**  
**Hemocultivos a los 10 minutos**

Animal	UFC/ml
1 .....	30
2 .....	0
3 .....	1.560
4 .....	230
5 .....	70
6 .....	80
7 .....	0
8 .....	0
9 .....	0
10 .....	0
11 .....	30.000
12 .....	1.460
13 .....	260
14 .....	0

Hemocultivos positivos = 8 (57,14 %).  
Hemocultivos negativos = 6 (42,85 %).  
Media aritmética = 2.407,85. Desviación estándar = 7.959,4734.

**Tabla II**  
**Grupo I**  
**Hemocultivos a los 120 minutos**

Animal	UFC/ml
1 .....	5.840
2 .....	—
3 .....	10
4 .....	1.010
5 .....	0
6 .....	0
7 .....	80
8 .....	0
9 .....	—
10 .....	0
11 .....	—
12 .....	8.520
13 .....	1.240
14 .....	—

Hemocultivos positivos = 6 (60 %).  
Hemocultivos negativos = 4 (40 %).  
Media aritmética = 2.783,33. Desviación estándar = 3.543,40.

**Tabla III**  
**Grupo II**  
**Hemocultivos a los 10 minutos**

Animal	UFC/ml
1 .....	0
2 .....	0
3 .....	30
4 .....	10
5 .....	3.120
6 .....	0
7 .....	60
8 .....	10
9 .....	0
10 .....	120
11 .....	60
12 .....	0
13 .....	70
14 .....	60
15 .....	19.520
16 .....	20
17 .....	13.560
18 .....	130
19 .....	800

Hemocultivos positivos = 14 (73,68 %).  
Hemocultivos negativos = 5 (26,31 %).  
Media aritmética = 1.977,36. Desviación estándar = 5.275,92

*Grupo III: Autoinjerto esplénico.* En la presente serie, de los 20 animales intervenidos y utilizados para el estudio microbiológico, sobrevivieron a los noventa días 15 de ellos. Las cinco muertes acaecidas aparecieron: tres en el postoperatorio inmediato y dos posteriormente, por causa no aclarada. De los 15 restantes, tres fallecieron por accidentes anestésicos en la obtención de muestras y dos en el intento de ex-

Tabla IV

Grupo II  
Hemocultivos a los 120 minutos

Animal	UFC/ml
1.....	0
2.....	0
3.....	4.200
4.....	780
5.....	90
6.....	9.680
7.....	28.640
8.....	0
9.....	0
10.....	420
11.....	20.160
12.....	0
13.....	4.920
14.....	20
15.....	540
16.....	1.340
17.....	280
18.....	20
19.....	2.460

Hemocultivos positivos = 14 (73,68 %).  
Hemocultivos negativos = 5 (26,31 %).  
Media aritmética = 3.871,05 Desviación estándar = 7.769,30.

Tabla V

Grupo III  
Hemocultivos a los 10 minutos

Animal	UFC/ml
1.....	520
2.....	2.880
3.....	440
4.....	0
5.....	0
6.....	4.200
7.....	40
8.....	320
9.....	260
10.....	1.520

Hemocultivos positivos = 8 (80 %).  
Hemocultivos negativos = 2 (20 %).  
Media aritmética = 1.018,00. Desviación estándar = 1.434,38.

traer el primer hemocultivo, sin conseguirlo. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas V y VI.

**Mortalidad:** Como en todos los grupos, se estudiaron cinco animales. Tan sólo falleció uno a las veinticuatro horas de la inoculación del *E. coli*.

**Resultados estadísticos:** Se han comparado los resultados obtenidos mediante un estudio del *análisis de la varianza* y determinado su nivel de significación. Para ninguno de los dos parámetros estudiados se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Asimismo se ha realizado un estudio de *correlación*

Tabla VI

Grupo III  
Hemocultivos a los 120 minutos

Animal	UFC/ml
1.....	1.050
2.....	1.760
3.....	1.800
4.....	10
5.....	4.180
6.....	50
7.....	150
8.....	2.620
9.....	3.100
10.....	12.320

Hemocultivos positivos = 10 (100 %).  
Media aritmética = 2.704,00. Desviación estándar = 3.652,67.

*de rangos de Spearman* para variables apareadas entre los resultados de ambos hemocultivos. En ningún caso se halló relación estadísticamente significativa.

**Discusión**

Existe una tendencia cada vez mayor en la práctica quirúrgica a preservar, dentro de lo posible, tejido esplénico cuando por las circunstancias patológicas que concurren sea necesario efectuar algún tipo de cirugía sobre el bazo, ya que es aceptado por la gran mayoría de los autores el efecto beneficioso de dicha conservación como profilaxis de la sepsis postesplenectomía desde su descripción inicial en 1952<sup>1</sup>.

La capacidad de los autoinjertos de bazo para regenerarse en el abdomen de animales de laboratorio fue observada hace sesenta años por Manley y Mariné<sup>2</sup>. Poco más tarde, en 1930, se demostró que los trasplantes eran funcionantes<sup>2</sup>. Para su realización existen cuatro técnicas fundamentales: implante en la pared abdominal o en una bolsa de epiplón, inyección intraportal o intrahepática<sup>3-8</sup>.

La implantación de tejido esplénico en la pared abdominal, habitualmente a nivel de la vaina de los rectos, tiene menor potencial de crecimiento que los injertos en cavidad peritoneal; sin embargo, presenta una serie de ventajas, como son la fácil demostración gammagráfica y un sencillo acceso quirúrgico<sup>9, 10</sup>.

La segunda modalidad de injerto, en bolsa de omento, ha demostrado tener mayor viabilidad y un mejor crecimiento que los intraparietales<sup>11-14</sup>. Ha sido referido también un buen resultado realizando los trasplantes en la fosa esplénica, aunque no se han mostrado mejores desde el punto de vista estadístico que los realizados con el clásico envoltorio de omento<sup>15</sup>.

Tanto la inyección intraportal como la intrahepática han sido inútiles como medio de conservación de

la función esplénica en la mayoría de los trabajos de investigación realizados, siendo sobre todo la hepática la que más fracasos ha conllevado<sup>2, 16, 17</sup>.

Por todos estos motivos elegimos para el autotrasplante la utilización de un envoltorio de omento.

Entre los agentes productores de sepsis fulminante postesplenectomía destaca el *Streptococcus pneumoniae*, el cual se considera el responsable del 50 % de los cuadros sépticos postesplenectomía<sup>10, 18</sup>. Sin embargo, aunque el *Escherichia coli* es citado en la literatura como microorganismo causante de estos cuadros y siendo un germen muy común en la práctica clínica, se ha estudiado escasamente desde el punto de vista experimental<sup>19</sup>.

El análisis de los hemocultivos practicados a los diez minutos fue realizado desde dos perspectivas: cualitativa y cuantitativa. Desde el punto de vista cualitativo, es decir, analizando exclusivamente la existencia o ausencia de microorganismos circulantes, llama la atención que el grupo I (animales normales) presentaba un mayor porcentaje de hemocultivos negativos (42,85 %) que los del grupo II (anesplénicos) (26,31 %) y los autotrasplantados (20 %).

Al haber realizado cultivos utilizando tripticosa de soja-agar pudimos obtener resultados cuantitativos y someter dichos datos a un estudio estadístico que no mostró diferencias significativas entre las tres series.

La integridad del bazo en el animal puede tener alguna influencia en la presencia de una bacteriemia a los diez minutos de la inoculación, encontrándose mayor número de casos de hemocultivos negativos en el grupo control si se compara con las restantes series. Sin embargo, una vez que aparecen gérmenes en sangre circulante, la concentración de los mismos no se ve afectada por la presencia de autoinjertos.

A las dos horas de realizada la inoculación bacteriana, los cultivos sanguíneos presentaban una clara diferencia entre los animales normales y los anesplénicos, ya que entre los primeros había un 40 % de negativos, frente a un 26,31 % en los segundos. Los autotrasplantados tuvieron hemocultivos positivos en el 100 % de los casos. Por otra parte, el estudio cuantitativo no arrojó diferencias significativas.

Los hemocultivos a los ciento veinte minutos confirman la idea de que la presencia del bazo de manera íntegra preserva de algún modo al animal ante el desafío con *Escherichia coli*. Sin embargo, los autoinjertos fueron ineficaces frente a la inoculación bacteriana.

Al confrontar con el método estadístico de Spearman los resultados de los hemocultivos a los diez y ciento veinte minutos no se encontró correlación significativa en ninguno de los grupos.

Los resultados acerca de la mortalidad en cada uno de los grupos muestran datos discordantes y, sin lugar a dudas, no relacionados con el método quirúrgico empleado.

Nuestros resultados con *Escherichia coli* son contradictorios con los publicados por Cooney y cols.<sup>20</sup>, quienes trabajaron con *Streptococcus pneumoniae*. Qué duda cabe que existen muchas diferencias entre ambos microorganismos, pero elegimos para realizar nuestro estudio un germen con cápsula, factor trascendental para la aparición de un cuadro fulminante tras esplenectomía. Además, como ya hemos indicado, dicho germen ha sido referido como causante en clínica del cuadro que nos ocupa.

Otros factores inmunológicos pueden permanecer al conservar el bazo de forma autoinjertada<sup>21</sup>, pero ante los resultados obtenidos podemos afirmar que el trasplante no proporciona defensa aumentando el aclaramiento bacteriano de *Escherichia coli*, factor considerado como el árbitro fundamental en la sepsis siderante postesplenectomía<sup>20</sup>.

Podemos concluir, pues, que los autoinjertos esplénicos no son, en absoluto, eficaces para combatir una sepsis en animales previamente esplenectomizados, al menos ante el *Escherichia coli*.

## Bibliografía

1. KING, H., y SHUMACKER, H.: «Splenic studies. I. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy». *Ann. Surg.*, 136:239-247, 1952.
2. ELLISON, E., y FABRI, P.: «Complicaciones de la esplenectomía». *Clin. Q. Nort.*, 6:1307-1323, 1983.
3. BITTER-SUERMANN, H., y SHEVACH, E.: «Induction of transplantation tolerance in Guinea pigs by spleen allografts. I. Operative techniques and clinical results». *Transplantation*, 33:45-51, 1982.
4. COONEY, D.; SWANSON, S., y DEARTH, J.: «Heterotopic splenic autotransplantation in prevention of overwhelming post-splenectomy infection». *J. Pediat. Surg.*, 14:336-339, 1979.
5. FLEMING, C.; DICKSON, E., y HARRISON, E.: «Splenosis: autotransplantation of splenic tissue». *Am. J. Med.*, 61:414-419, 1976.
6. GAMMIL, S., y VANCRAIG, H.: «Splenosis, autotransplantation of splenic tissue following trauma». *JAMA*, 208:1387-1390, 1969.
7. LIVADITIS, A., y SANDBERG, G.: «Splenic autotransplantation: an experimental study». *Kinderchir. Grenzgeb.*, 29:148-157, 1980.
8. RAUSIS, C.; JORIS, F.; LAZAREWSKI, P., y ROUVINEZ, S.: «Autoimplantation péritoneale de tissu splénique chez le rat irradié». *Helv. Chir. Acta*, 46:231-234, 1979.
9. GROSFELD, J., y MALANGONI, M.: «Blunt splenic trauma: A reassessment of surgical therapy based on laboratory and clinical observations». *Ann. Surg.*, 114:449-453, 1979.
10. GARCÍA-VALDECASAS, J.; UROZ, J.; ASTUDILLO, E.; FERNÁNDEZ-CRUZ, L., y MORALES, L.: «Métodos quirúrgicos para la conservación de la función esplénica». *Rev. Quir. Esp.*, 9:277-288, 1982.
11. WERBIN, N., y LODHA, K.: «Malign effects of splenectomy. The place of conservative treatment». *Postgrad. Med. J.*, 58:65-69, 1982.
12. LAU, J., y ONG, G.: «Experimental splenosis: A comparative study in rats». *Aust. N. Z. J. Surg.*, 52:210-215, 1982.
13. VELCEK, F.; KUGACZEWSKI, J., y JONGCO, B.: «Function of the replanted spleen in dogs». *J. Trauma*, 22:502-506, 1982.
14. HOLSCHNEIDER, A.; DAUMLING, S.; STRASSER, B., y BELOH-

- RADSKY, B.: «Experience with heterotopic autotransplanted splenic tissue in children». *Kinderchir.*, 35:145-152, 1982.
15. MARTÍNEZ, F.; MARTÍNEZ, M.; AGUILLELLA, V.; INGELMO, A.; CASTIELLA, T.; PARRA, P., y GONZÁLEZ, M.: «Consideraciones macro y microscópicas sobre diversas técnicas de cirugía conservadora esplénica experimental». *Cir. Esp.*, 2:261-267, 1988.
  16. RICE, H., y JAMES, P.: «Ectopic splenic tissue failed to prevent fatal pneumococcal septicemia after splenectomy for trauma». *Lancet*, 15:565-566, 1980.
  17. OAKES, D.; FROEHLICH, J., y CHARTERS, A.: «Intraportal splenic autotransplantation in rats: feasibility and effectiveness». *J. Surg. Res.*, 32:7-14, 1982.
  18. FRANCKE, E., y NEW, H.: «Postsplenectomy infection». *Surg. Clin. North. Am.*, 61:135-155, 1981.
  19. SCHER, K.; WROCZUNSKI, F., y COIL, J.: «The effect of splenectomy on Gram negative bacteremia». *Hosp. Preg.*, 63:407-409, 1982.
  20. COONEY, D.; DEARTH, J.; SWANSON, S.; DEWANJEE, M., y TELANDER, R.: «Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation, and immunization in preventing postsplenectomy infection». *Surg.*, 86:561-569, 1979.
  21. MARTÍNEZ, F.; MARTÍNEZ, M.; AGUILLELLA, V.; GÓMEZ, F.; INGELMO, A., y GONZÁLEZ, M.: «Valoración inmunológica de diversos autotrasplantes esplénicos experimentales». *Cir. Esp.*, 1:40-44, 1988.