

TRABAJOS CIENTÍFICOS

Recuento bacteriano en bilis de pacientes con colangitis aguda. Reporte preliminar*

Assessment of bacterial load in bile among patients with acute cholangitis

Drs. HÉCTOR LOSADA M^{1,2,3}, CARLOS MANTEROLA D^{1,2,3}, VIVIANA PINEDA N^{1,2,3},
MANUEL VIAL G^{1,2}

¹Departamento de Cirugía y Traumatología. Universidad de La Frontera. Temuco, Chile.

²MinCir. Metodología e Investigación en Cirugía. ³Servicio de Cirugía. Hospital Hernán Henríquez Aravena, Temuco.

RESUMEN

Introducción: No se encuentra bien establecido el rol que desempeña la carga bacteriana de la bilis en la fisiopatología o evolución de los pacientes con colangitis. El objetivo del presente trabajo fue describir la carga bacteriana y los gérmenes más frecuentes en la bilis coledociana de pacientes con colangitis aguda litiásica intervenidos quirúrgicamente en el Hospital Hernán Henríquez de Temuco entre diciembre del año 2004 y marzo del 2005. **Material y Método:** Estudio de serie de casos prospectiva. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años con colangitis aguda litiásica. Los cultivos de la bilis coledociana se sembraron en agar sangre y agar Mac Conkey. **Resultados:** Se estudió un total de 30 cultivos de bilis. Los gérmenes aislados presentaron cargas bacterianas sobre 105 UFC/ml en 25 cultivos (83,3%), 4 (12,3%) presentaron carga bacteriana inferior a 105 UFC/ml y en 1 cultivo (3,4%) no se registró presencia de gérmenes. El germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* (53%), seguido por *Klebsiella pneumoniae* (20%). Las bacterias gram negativas no mostraron resistencia a los aminoglucósidos ni cefalosporinas de tercera generación. Los gérmenes gram positivos no mostraron resistencia a la ampicilina y vancomicina. **Conclusiones:** La carga bacteriana en los pacientes con colangitis aguda litiásica es >105 UFC/ml en la mayoría de los casos. El germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli*, seguido por *Klebsiella pneumoniae*. Llama la atención el aislamiento de *Morganella morganii* y *Citrobacter freundii* en 1 cultivo.

PALABRAS CLAVES: *Colangitis aguda, cultivos cuantitativos de bilis, serie de casos*

SUMMARY

Background: The role that bile bacterial load plays in the physiopathology or the evolution of patients with cholangitis has not been well established. **Aim:** To assess the bacterial load and the most common bacteria infecting the bile of patients with acute gallstone cholangitis. **Materials and Methods:** A prospective series of patients over 18 years of age with acute gallstone cholangitis operated at Temuco Regional Hospital between December, 2004 and March, 2005. The bile cultures from the choledochus were placed in blood and MacConkey agar plates. **Results:** A total of 30 bile cultures were studied. In 25 cultures (83%) the bacterial load was over 105 colony forming units (CFU)/ml, four cultures (12.3%) had a bacterial load of less than 105 CFU/ml and one culture (3.4%) was negative. The most commonly isolated bacteria was *Escherichia coli* (53%), followed by *Klebsiella pneumoniae* (20%). All gram-negative bacteria were susceptible to either aminoglycosides or third-generation cephalosporins. All gram-positive bacteria were susceptible ampicillin or vancomycin. **Conclusions:** The bacterial load in patients with acute gallstone cholangitis is >105 CFU/ml in most cases. The most frequently isolated germ was *Escherichia coli*, followed by *Klebsiella pneumoniae*.

KEY WORDS: *Acute cholangitis, bile culture, gallstones*

INTRODUCCIÓN

La colangitis aguda es una entidad prevalente en Chile, siendo un modelo séptico poco estudiado en su fisiopatología y en lo que respecta a la carga bacteriana. Normalmente la bilis es estéril, existiendo factores o barreras mecánicas que protegen el árbol biliar, como el esfínter de Oddi, que impide el reflujo de contenido intestinal hacia la vía biliar y uniones tipo "tight junctions" entre los hepatocitos las que separan los canalículos biliares de los sinusoides hepáticos protegiendo de una eventual bacteremia. Adicionalmente, las células de Küpffer en el sinusoides hepático ayudan a mantener estéril el sistema biliar fagocitando a los microorganismos. De por sí, la misma bilis posee propiedades antibacterianas que incluyen IgA y sales biliares; y, finalmente, el flujo unidireccional de la bilis al intestino actúa como medio mecánico físico de arrastre lo que la mantiene libre de microorganismos¹.

La colonización bacteriana de la bilis parece ser frecuente en pacientes con obstrucción de la vía biliar ya sea con o sin signos de sepsis; sin embargo respecto a la carga de bacterias en la vía biliar, no se encuentra bien establecido el rol que desempeña en la fisiopatología o evolución de los pacientes con colangitis².

En un reporte previo se encontró que en pacientes con colangitis aguda la carga bacteriana era superior a 105 Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/mm³³.

El objetivo del presente trabajo fue describir la carga bacteriana, medida en UFC/mm³, y describir los gérmenes más frecuentes en la bilis coledociana de pacientes con colangitis aguda litiásica intervenidos quirúrgicamente en el Hospital Hernán Henríquez Arevena de Temuco en el mes de diciembre del año 2004 a marzo del 2005.

MATERIAL Y MÉTODO

1. *Diseño*: Estudio de serie de casos prospectiva.

2. *Población*: Se incluyeron sujetos mayores de 18 años con colangitis aguda litiásica (definida ésta por tríada de Charcot y/o parámetros de sepsis de origen biliar presente al ingreso al servicio de urgencias), intervenidos quirúrgicamente en los servicios de cirugía y urgencias del Hospital Regional de Temuco en el período diciembre de 2004 a marzo de 2005 y que aceptaron participar de éste protocolo mediante la firma del consentimiento informado.

3. *Criterios de exclusión*: Se excluyeron aquellos pacientes en los que no se realizó exploración

quirúrgica de la vía biliar o se encontró sospecha de neoplasia vesicular, de la vía biliar o periampular. Además se excluyeron pacientes con uso de corticoesteroides o algún fármaco inmunosupresor hasta 15 días antes de la consulta por el cuadro abdominal y uso de antibióticos 48 horas previo a la consulta por el cuadro abdominal.

4. *Definiciones*:

4.1. *Triada de Charcot*. Coexistencia de los siguientes signos y síntomas: Temperatura axilar o rectal mayor a 38 °C, dolor a la palpación superficial en hipocondrio derecho, ictericia en piel o escleras⁴.

4.2. *Sepsis de origen biliar*. Presencia de 2 o más de los siguientes signos: Temperatura axilar de 38 °C o 36 °C; frecuencia cardíaca ≥ 90 latidos/min; frecuencia respiratoria ≥ 20 respiraciones/min o PaCO₂ de 32 torr; recuento de leucocitos ≥ 12000 células/mm³, ≤ 4000 células/mm³, o $\geq 10\%$ de formas inmaduras. Esto asociado siempre a la evidencia ultrasonográfica de dilatación de la vía biliar intrahepática o extrahepática, ésta última considerada como colédoco mayor o igual de 7 mm en cualquier proyección⁵.

4.3. *Unidad Formadora de Colonias (UFC)*. Célula viva y aislada que se encuentra en un sustrato y en condiciones ambientales adecuadas, que produce una colonia en un lapso de tiempo breve^{5,6}.

5. *Herramientas estadísticas*. Se utilizó estadística descriptiva, con cálculo de medias de tendencia central, dispersión y tendencia extrema. Los datos fueron analizados utilizando el programa Stata® 8.0.

5.1. *Maniobra*: Una vez identificada la vía biliar, se realizó punción con aguja previa a la coledocotomía y se procedió a sembrar inmediatamente los cultivos en agar sangre y agar Mac Conkey. La sensibilidad in vitro a los antibióticos se realiza por medio de método cualitativo con sensibilizadores para cada tipo de antibiótico.

6. *Aspectos éticos*: Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de La Frontera. Se confeccionó un formulario de consentimiento informado para los pacientes del protocolo.

7. *Financiamiento*: Este estudio fue financiado por el Departamento de Cirugía y Traumatología de la Universidad de La Frontera y por el proyecto DIDUFRO INI N°110408 de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad de La Frontera.

RESULTADOS

Se estudió un total de 30 cultivos de pacientes con diagnóstico de colangitis aguda litiásica, inter-

venidos quirúrgicamente en el servicio de urgencias del Hospital Regional de Temuco en el período diciembre de 2004 a marzo de 2005.

Los gérmenes aislados presentaron cargas bacterianas sobre 105 UFC/ml en 25 cultivos (83,3%), 4 (12,3%) presentaron carga bacteriana inferior a 105 UFC/ml y en 1 (3,4%) cultivo no se registró presencia de gérmenes

Veinte pacientes (66,7%) fueron de género femenino y 10 (33,3%) de género masculino, con una mediana de edad de 70 años y con edad mínima de 25 años y edad máxima de 95 años.

Al ingreso 2 pacientes se encontraban con TA<90/60, la mediana de la frecuencia cardíaca al ingreso fue 86 latidos por minuto, con valores extremos de 64 y 128 latidos por minuto. La mediana de la temperatura de ingreso fue de 38°C, con valores extremos de 36°C y 40°C.

Dentro de los exámenes de laboratorio se identificó una mediana para el recuento de glóbulos blancos de 14650 células/mm³, con valores extremos de 4000 células/mm³ y 53400 células/mm³. Los parámetros de laboratorio más importantes se describen en la Tabla 1; 22 cultivos de bilis (73,3%) fueron monobacterianos, 7 (23,3%) polibacterianos y uno (3,4%) estéril.

El germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* en 16 cultivos (53%), seguido por *Klebsiella pneumoniae* en 6 cultivos (20%). La mayoría de los gérmenes aislados se presentaron con cargas superiores a 100.000 UFC/ml (Tabla 2).

Cuando describimos la resistencia de los gérmenes a los antibióticos de uso habitual en nuestro centro, vemos que para la *Escherichia coli* no se registró resistencia, *Klebsiella pneumoniae* presentó resistencia en un caso a ampicilina y otro a ciprofloxacino. El Enterococo no registró resistencia a la ampicilina. *Pseudomona aeruginosa*, *Morganella morganii* y *Citrobacter freundii* no registraron

Tabla 1

VARIABLES CLÍNICAS Y DE LABORATORIO

Variables	Mediana	Rango
Frec. cardíaca (lat/min)	86	64-128
Temperatura axilar (°C)	38	36-40
PAS (mmHg)	120	71-150
PAD (mmHg)	70	43-90
Leucocitos (cel/ml)	14650	4000-53400
Plaquetas (cel/ml)	240250	62000-879000
PT (%)	68.5	49,3-89
Creatinina (mg/dl)	1,095	0,6-2,53
Fosfatasas alcalinas (U/l)	1001	78-4450
Bilirrubina total (mg/dl)	5,1	0,9-9,82
Bilirrubina directa(mg/dl)	3,82	0,2-9,34

Frec cardíaca: frecuencia cardíaca.

PAS: presión arterial sistólica.

PAD: presión arterial diastólica.

PT: tiempo de protrombina.

resistencia para los antibióticos de uso habitual en nuestro servicio. Hay que destacar que no se registró resistencia para gentamicina ni ceftriaxona en la totalidad de los gérmenes aislados (Tabla 4).

El esquema antibiótico más usado en nuestro centro fue ampicilina y cloramfenicol en 18 pacientes (61%), seguido por ceftriaxona y metronidazol en 10 pacientes (33%), gentamicina más metronidazol en 1 paciente (3,3%) y gentamicina más cloramfenicol en 1 paciente (3,3%).

El promedio de estancia en UCI fue de 0.56 días con desviación estándar (D.E.) de 1,54 días y el promedio de estancia en UTI fue de 1,6 días con D.E. de 3,86 días. El promedio total del tiempo de hospitalización fue de 9,23 días con D.E. de 6,76 días, con una mediana del tiempo de hospitalización de 6 días con valores extremos de 3 y 34 días.

En la presente serie se registró la muerte de 1 paciente.

Tabla 2

DISTRIBUCIÓN DE GÉRMESES AISLADOS EN CULTIVOS DE BILIS

Bacteria	n	%
<i>Escherichia coli</i>	16	53,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	20
<i>Citrobacter freundii</i>	2	6,67
Enterococo fecalis	2	6,67
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	3,33
Streptococo grupoD	1	3,33
<i>Morganella morganii</i>	1	3,33
Negativo	1	3,33
Total	30	100

Tabla 3

RELACIÓN DE LA CARGA BACTERIANA CON EL GERMEN AISLADO

Bacterias	>105 UFC/ml	<105 UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	14	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1
Enterococo fecalis	2	0
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	0
Streptococcus grupo D	1	0
<i>Morganella morganii</i>	1	0
Total	25	4

Tabla 4
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS SEGÚN GERMEN

Germen	Ampicilina	Gentamicina	Ceftriaxona	Ciprofloxacino	Vancomicina
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	1	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterococo faecalis</i>	0	0	0	2	0
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	0	0	0	0
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	0
Total	1	0	0	3	0

DISCUSIÓN

La colonización bacteriana de la bilis parece ser frecuente en pacientes con obstrucción de la vía biliar ya sea con o sin signos de sepsis; sin embargo respecto a la carga de bacterias en la vía biliar, no se encuentra bien establecido el rol que desempeña en la fisiopatología o evolución de los pacientes con colangitis².

El único reporte que encontramos en la literatura respecto a la carga bacteriana en los pacientes con colangitis aguda, que tiene un tamaño de muestra inferior a nuestro reporte (n=23), muestra que en pacientes con signos clínicos de colangitis aguda el recuento bacteriano fue >10⁵ UFC/ml. En nuestro reporte encontramos 25 cultivos con recuentos >10⁵ UFC/ml (83%), 4 cultivos con recuentos <10⁵ UFC/ml (13%) y 1 cultivo negativo.

Dentro de las limitaciones de este estudio están el número de pacientes y el no haber tomado cultivo para gérmenes anaerobios, lo cual nos es imposible por dificultades técnicas de laboratorio. El tamaño de la muestra pensamos aumentarlo ya que este es el primer reporte de este protocolo..

El mecanismo fisiopatológico de producción de colangitis aguda no está bien estudiado. La colonización bacteriana es un evento importante, pero cómo se producen las manifestaciones clínicas de colangitis aguda a partir de esta colonización y proliferación no queda claro. Hay reportes de positividad de cultivos en pacientes con coledocolitiasis sin signos de colangitis que oscilan entre 36% y 66%^{7,8}; hay pocos reportes de hemocultivos en pacientes con colangitis aguda, mostrando una positividad de hemocultivos de 55%⁹, datos que no permiten precisar el mecanismo de paso de bacterias directamente de la vía biliar al hígado y sangre periférica .

Algunos grupos de investigación hemos propuesto en el modelo fisiopatológico la integración del sistema inmune asociado al intestino (GALT) y

la producción de interleukinas proinflamatorias y antiinflamatorias.

Las bacterias aisladas son similares a las reportadas en otros estudios, con predominio de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Llama la atención la presencia de *Morganella morganii* de la cual solo existe un reporte que muestra su presencia en hemocultivos de pacientes sometidos a endoscopia terapéutica de la vía biliar¹⁰ y la presencia de *Citrobacter freundii*, bacteria de origen nosocomial y con alta proporción de betalactamasas de espectro amplio¹¹.

Dentro de la susceptibilidad antibiótica tenemos que las bacterias gramnegativas no mostraron resistencia a los aminoglucósidos ni cefalosporinas de tercera generación, los gérmenes gram positivos no mostraron resistencia a la ampicilina y vancomicina. Dos² enterococo y una¹ *Klebsiella pneumoniae* mostraron resistencia al ciprofloxacino.

Nuestro centro ha usado el esquema antibiótico ampicilina más cloramfenicol, con una efectividad histórica aceptable. Se necesita un tamaño de muestra mayor para hacer recomendaciones acerca del cambio del esquema antibiótico.

Esta serie de casos forma parte de un estudio de cohorte en pacientes con patología obstructiva litiásica de la vía biliar, que tiene como objetivo determinar si existe asociación entre la carga bacteriana de la bilis y la morbilidad de los pacientes. Esperamos terminar este protocolo fines del presente año.

CONCLUSIONES

El promedio de carga bacteriana en los pacientes con colangitis aguda litiásica es >10⁵ UFC/ml. El germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* en 16 cultivos (53%), seguido por *Klebsiella* en 6 cultivos (20%). Llama la atención el aislamiento de *Morganella morganii* y *Citrobacter freundii* en 1 cultivo.

Las bacterias gram negativas no mostraron resistencia a los aminoglucósidos ni cefalosporinas de tercera generación y los gérmenes gram positivos no mostraron resistencia a la ampicilina y vancomicina.

REFERENCIAS

1. Sung JY, Costeron JW, Shaffer EA. Defense system in the biliary tract against bacterial infection. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 689-96.
2. Harris HW, Norton JA, Bollinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ *et al.* *Surgery Basic and Clinical Evidency*. New York: 2001; 553-84.
3. Flores C, Maguilnik I, Hadlich E, Goldani LZ. Microbiology of choledochal bile in patients with choledocholithiasis admitted a tertiary hospital. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18(3): 333-36.
4. Charcot JM. *Lecons sur les du fore des voices filares et des vans*, thesis. Paris 1877.
5. Negroni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires, 1999.
6. Universidad de Navarra. *Microbiología Clínica*. Curso 2004-2005. www.unavarra.es/genmic/microclinica/tema%2002.pdf 2005. Ref Type: Electronic Citation
7. Chang WT, Lee KT, Wang SR, Chaung SC, Kuo KK, Chen JS *et al.* bacteriology and antimicrobial susceptibility in biliary tract disease: an audit of 10-years experience. *Kaohsiung J Med Sci* 2002; 18(5):221-228.
8. Csendes A, Mitru N, Maluenda F, Diaz JC, Burdiles P, Csendes P *et al.* Counts of bacteria and pyocytes of choledochal bile in controls and in patients with gallstones or common bile duct stones with or without acute cholangitis. *Hepatogastroenterol* 1996; 43(10): 800-06.
9. Prevot L, Bresler L, Muller C, Boissel P, Grosdidier J. Bacteriological aspects of acute cholangitis with gallstones. *Presse Med* 1991; 20(15): 689-91.
10. Lorenz R, Hermann M, Kassem AM, Lehn N, Neuhaus, Classen M. Microbiological examinations and in vitro testing of different antibiotics in therapeutic endoscopy of the biliary system. *Endoscopy* 1998; 30(8): 708-12.
11. Kim BN, Woo JH, Ryu J, Kim YS. Resistance to extended-spectrum cephalosporins and mortality in patients with *Citrobacter freundii* bacteremia. *Infection* 2003; 31(4): 202-07.

Financiado por proyecto DIDUFRO INI N°110408