

# Contaminación bacteriana experimental de bilis e hígado en perros criollos. Tratamiento alternativo con (cefalona), un híbrido de cefalosporina y fluoroquinolona

Arturo Carmona-Mancilla,\* Fernando Villegas-Álvarez,\*|| Héctor Sumano-López,§  
Luis Ocampo-Camberos,§ Beatriz Eugenia Pérez-Guille,\* José Francisco González Zamora,\*  
Rafael Coria-Jiménez,† Rosa Eugenia Soriano-Rosales,\* Miguel Ángel Jiménez-Bravo-Luna,\* Angélica González-Macié†

\*Laboratorio de Cirugía Experimental, †Laboratorio de Bacteriología Experimental y ‡Laboratorio de Microscopia Electrónica.  
Instituto Nacional de Pediatría.

§Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. ||Facultad de Medicina.  
Universidad Nacional Autónoma de México.

**Experimental bacterial contamination of bile and liver in mongrel dogs: an alternative treatment with cephalone, a hybrid of cephalosporine fluoroquinolone**

## ABSTRACT

**Objectives.** A longitudinal, randomized, single blind study was done to evaluate the efficacy of an antibacterial hybrid molecule ( $\beta$ -lactamic-fluoroquinolone) named cephalone after biliary-enteric-bypass (BEB). **Material and methods.** Four groups of mongrel dogs were operated on three consecutive periods. Cultures of bile and liver were obtained and assessed, followed by obliteration of common bile duct and BEB to groups A, B and C. Group D served as a control. Ten days later the group A received conventional treatment based on ampicillin/gentamicin and groups B and C, cephalone in two different concentration schemes during 10 consecutive days. Further samples were processed for bacteria and additional liver biopsies were obtained for histopathological analysis. **Results.** All three treatments reverted bacterial contamination in the liver and most of the bile samples were negative or showed a significant decrease in the number of colony forming units ( $p = 0.002$ ). Histopathological analysis proved no lesions. **Conclusions.** Comparison of efficacy among antibacterial treatments revealed undistinguishable efficacy in this short-term assessment of bacterial contamination after BEB in dogs. The use of cephalone could be considered as a viable treatment or prophylaxis in bacterial infections occurring after BEB. Further studies are needed to assess long-term impact of the cephalone in this setting.

**Key words.** Biliary atresia. Cephalone. Biliary-enteric-bypass (BEB). Colangitis.

## RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar un antimicrobiano híbrido de cefalosporina con fluoroquinolona (denominado cefalona) en sujetos expuestos a contaminación bacteriana experimental. **Material y métodos.** Cuatro grupos de perros criollos fueron operados en tres tiempos consecutivos. Inicialmente se hicieron cultivos de bilis e hígado, seguidos de ligadura del colédoco y derivación bilio-entérica (DBE) en los grupos A, B y C; el grupo D se usó como control. Diez días después se repitieron los cultivos. El grupo A recibió ampicilina/gentamicina y los grupos B y C, cefalona administrada en dos concentraciones distintas respectivamente, durante diez días. Finalmente se repitieron los cultivos y se realizaron biopsias hepáticas. **Resultados.** Las muestras de bilis y más de la mitad de las de hígado fueron positivas para diversos gérmenes. Después de los tratamientos no hubo desarrollo de bacterias en hígado. Los cultivos en bilis fueron negativos o mostraron una disminución significativa en el número de bacterias ( $p = 0.002$ ). No hubo lesiones hepáticas. **Conclusiones.** La combinación de ampicilina/gentamicina o la administración de cefalona a las concentraciones empleadas mostraron una eficacia similar a corto plazo. La cefalona podría considerarse una alternativa para prevenir la contaminación bilio-hepática en pacientes con DBE. Se requieren estudios adicionales para evaluar su impacto a largo plazo.

**Palabras clave.** Atresia de vías biliares. Cefalona. Derivación bilio-entérica en Y de Roux. Colangitis.

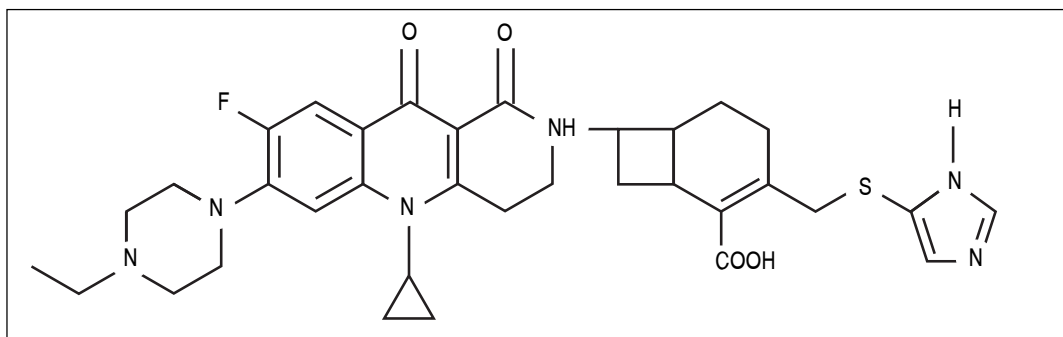


Figura 1. Fórmula estructural de una cefalona en la que destaca la unión carboxamido entre el 7-ACA y una fluoroquinolona.

## INTRODUCCIÓN

La atresia de vías biliares (AVB) es una enfermedad congénita de etiología desconocida que necesariamente requiere intervención quirúrgica. El tratamiento estándar inicial es la derivación bilioentérica (DBE) descrita y puesta en práctica con éxito por el Dr. Morio Kasai;<sup>1</sup> sin embargo, necesita del uso adicional de esquemas secuenciados de antibióticos que contrarresten las contaminaciones e infecciones frecuentes de las vías biliares y hepáticas provocadas por la utilización del intestino como conducto biliar.<sup>2-4</sup> Las bacterias aisladas en el tubo digestivo son las que habitualmente contaminan las vías biliares intrahepáticas y el hígado después de llevar a cabo la DBE. Para ello, se ha usado un diverso grupo de antibióticos sin que haya un consenso sobre cuál sería el ideal. No obstante, el incremento de la resistencia observada en varios gérmenes ha complicado el tratamiento de las infecciones nosocomiales en general y ha creado especies de difícil manejo a los antibióticos actualmente disponibles. Se ha observado resistencia de enterobacterias y *Klebsiella pneumoniae* entre 20 y 30% a cefalosporinas de tercera generación. La *Salmonella* sp y otras enterobacterias causantes de gastroenteritis pueden ser productoras de  $\beta$ -lactamasas, lo cual es relevante cuando los niños requieren tratamiento para infecciones invasivas, como es el caso de pacientes con AVB con colangitis. La resistencia a las quinolonas por las enterobacterias es generalmente el resultado de mutaciones cromosómicas. Se ha descrito también resistencia a carbapenems por la aparición de un tipo de carbapenemasas (CHBL, VIM, IMP, NDH-1, etc.).<sup>5,6</sup>

Recientemente se ha sugerido el empleo de combinaciones entre las fluoroquinolonas y los aminoglicósidos con algún  $\beta$  lactámico, lo cual sería una opción útil para los próximos años, sobre todo contra bacterias de probada resistencia y prevalencia en infecciones nosocomiales.<sup>7</sup>

Considerando lo anterior, el propósito de este estudio fue evaluar la eficacia de un grupo de antibacterianos híbridos de cefalosporina y fluoroquinolona ligados por un carboxamido, denominados cefalonas.<sup>8</sup> Esta familia de antibacterianos de diseño mexicano\* tiene un potencial de hasta 110 derivados, su fórmula estructural se presenta en la figura 1; para ello, se eligió el modelo de contaminación experimental de enterobacterias a las vías biliares externas y al hígado inducida en perros sanos a través de una derivación bilio-entérica.<sup>9</sup> La combinación ampicilina/gentamicina (usada para comparar la efectividad de la cefalona en este estudio) fue empleada empíricamente como muchos otros esquemas de antibióticos *vs.* la contaminación bilio-hepática secundaria a las derivaciones bilio-entéricas en niños con AVB derivados, no hay un estándar de oro en el manejo de esta complicación, la combinación ampicilina/gentamicina cubre un amplio espectro de microbios, específicamente anaerobios y enterobacterias. La cefalona tiene un espectro similar y es comparable a las cefalosporinas de tercera generación.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio experimental, longitudinal, ciego simple, aprobado por los Comités de Investigación y el Interno de Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del Instituto Nacional de Pediatría (INP). Número de registro 057/006, con base en los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana-ZOO-062-1999 sobre el uso y cuidados de animales de experimentación y el aval del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), proyecto 138332. Se incluyeron 32 perros criollos de uno y otro sexo; de dos y medio a tres y medio meses de edad, y de 5-7 kg de peso, procedentes del Centro Antirrábico de la Delegación Tláhuac en el Distrito Federal.

\*Patente ante el PCT: PCTWO9523153.

A través de una tabla de números aleatorios se integraron cuatro grupos (A, B, C y D) de ocho elementos cada uno.

### Procedimiento anestésico y quirúrgico

Se llevaron a cabo en el Laboratorio de Cirugía Experimental del INP. Todos los animales se sometieron a anestesia general intubada con enflurano a 2.5% (Enlirane®, laboratorio Zéneca). Para la inducción se utilizó una mezcla secuenciada de atropina 0.05 mg/kg (Atropisa® laboratorio Pisa), cloruro de xilazina 7 mg/kg (Rompún®, laboratorio Bayer) y pentobarbital sódico 25 mg/kg (Anestesal®, laboratorio Pfizer), por vía intramuscular (IM). Previa asepsia y antisepsia de la región abdominal se efectuó laparotomía media longitudinal supraumbilical. Se expuso el hígado y la vesícula biliar, de cada perro se extrajo inicialmente un centímetro cúbico (cc) de bilis del *fundus* vesicular a través de una aguja No. 18 conectada a una jeringa de 5 cc. Se obtuvo, además, un fragmento del lóbulo hepático derecho de aproximadamente 1 cc, se hizo hemostasia en hígado con un punto en X con catgut crómico00 (Ethicon®, Johnson & Johnson). Ambas muestras se colocaron en forma independiente en contenedores estériles, se codificaron y se enviaron al Laboratorio de Bacteriología Experimental del INP para su cultivo.

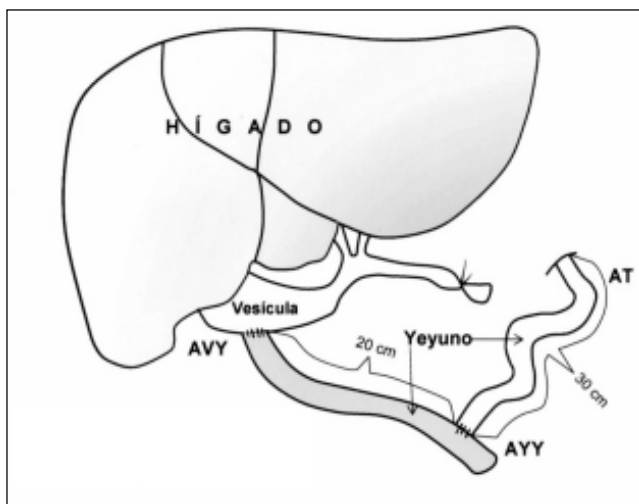


Figura 2. Derivación bilioentérica (DBE) en Y de Roux. Se señala el sitio de las anastomosis después de la sección del yeyuno a 30 cm del ángulo de Treitz y la anastomosis del segmento distal a la vesícula y su reconexión a yeyuno a 20 cm de la primera anastomosis a través del extremo proximal del asa seccionada. DBE: derivación bilioentérica. AVY: anastomosis vesículo-yeyunal. AYY: anastomosis yeyuno-yeyunal. AT: ángulo de Treitz.

En el mismo tiempo quirúrgico, a los perros de los grupos A, B y C se les ligó el extremo distal del colédoco con seda 00 (Ethicon®, Johnson & Johnson) y se llevó a cabo una DBE en Y de Roux, de acuerdo con la técnica descrita previamente,<sup>9</sup> seccionando el yeyuno a 20 cm del ángulo de Treitz, el extremo distal se unió a la vesícula biliar, creando previamente una apertura en el *fundus* de aproximadamente 1.5 cm, mediante una anastomosis vesículo-enteral, la porción proximal del asa yeyunal se conectó al yeyuno a 30 cm de la primera anastomosis a través de una anastomosis término-lateral (Figura 2).

En ambos procedimientos se usó catgut crómico 000 (Ehticon®, Johnson & Johnson) en dos planos con puntos separados, la pared abdominal se cerró por planos con poliglactina 00 (Vicryl®, Johnson & Johnson) y polipropileno 000 (Prolene®, Johnson & Johnson). Los integrantes del grupo D sirvieron como testigos, no fueron derivados ni se ligó el colédoco. Diez días después todos los perros fueron reintervenidos con objeto de repetir los cultivos de bilis y del parénquima hepático.

### Esquema de antibióticos

El mismo día de la segunda intervención, una vez concluidos los cultivos y los animales recuperados de los efectos anestésicos residuales, al grupo A se le administró ampicilina solución inyectable (Meprizina®, laboratorio Pisa) y gentamicina (Sector Salud clave 1955, SSA) a dosis de 100 mg/kg y 4 mg/kg, respectivamente; al grupo B se le administró cefalona a 10 mg/kg/día (laboratorio Aranda, México) y al grupo C se le administraron 20 mg/kg/día del mismo antimicrobiano. Los tratamientos se llevaron a cabo durante diez días consecutivos administrados por vía IM, divididos en tres dosis; el grupo D no recibió antibióticos. Al concluir el periodo de administración de los antibióticos, todos los perros se sometieron a una tercera intervención con el mismo esquema anestésico para repetir los cultivos de bilis e hígado; esa vez adicionalmente se tomaron muestras representativas del lóbulo derecho del hígado para estudio histomorfológico.

### Seguimiento clínico

Después de cada una de las dos primeras intervenciones los perros fueron ubicados en jaulas individuales, recibieron nalbufina (Bufigen®, laboratorio Pisa) a 0.3 mg/kg, administrada cada 6 h por vía IM, durante dos días. Una vez recuperados de los efectos

residuales de la anestesia se les ofreció agua y alimento (Pedigree de Purina®, para cachorros) a libre demanda. Se evaluó la actividad física espontánea, se registró el peso y la temperatura cada 24 h. Al final de la última intervención los animales se sometieron a eutanasia mediante sobredosis de pentobarbital sódico.

### Cultivos de bilis e hígado

Las muestras para cultivo se procesaron para identificar el género y la especie bacteriana, así como el número de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL), utilizando para ello las metodologías sugeridas por la *American Society for Microbiology* sin modificaciones.<sup>10</sup>

#### Procesamiento de las muestras hepáticas

Las biopsias hepáticas se fijaron en formol a 10% amortiguado con buffer de fosfatos y pH 7, los cortes se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE) y fueron analizados por un solo investigador (AGM), sin conocer la procedencia del grupo o tratamientos administrados, enfocando el interés en detectar cualquier cambio inflamatorio o estructural.

#### Análisis estadístico

Se hicieron representaciones tabulares de los datos. Para el análisis del efecto bactericida de los tres esquemas utilizados se compararon los grupos con base en el número de UFC/mL en el líquido biliar, considerando que los tres grupos de tratamiento eliminaron las bacterias ubicadas en el hígado, la comparación se realizó utilizando un análisis de covarianza ajustado con el valor inicial del número de UFC/mL

antes del tratamiento, se aplicó la transformación de Box y Cox.<sup>11</sup> Para identificar cuál grupo fue diferente se aplicó la prueba de Tukey. Se utilizó el paquete estadístico JMP® (Institute Inc. SAS Campus Drive. Cary, North Carolina, USA, versión 9). Se consideraron valores significativos cuando  $p \leq 0.01$ .

### RESULTADOS

Los animales toleraron los procedimientos y sobrevivieron hasta el final del estudio, evolucionaron sin cambios significativos de peso, sin ictericia o acolia y se mantuvieron afebriles. Todos los perros sometidos a ligadura distal de colédoco y DBE mostraron cultivos positivos a diferentes enterobacterias en bilis (Cuadro 1), principalmente *E. coli* en forma aislada o combinada en menor proporción con otras bacterias como *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico, *Bacillus piliformis* y *Flavobacterium sp.* De igual manera se obtuvieron cultivos positivos en hígado en 13 perros (seis del grupo A, tres del grupo B y cuatro del grupo C), nuevamente con predominio de *E. coli* combinada con *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico y *Staphylococcus aureus*, o positivo exclusivamente a *Salmonella sp.* en dos ocasiones. Después de ser sometidos a los tres regímenes de antimicrobianos se observó que las muestras anteriormente positivas en hígado no presentaron desarrollo de bacterias en ninguno de los tres grupos; en bilis persistieron positivas únicamente a *E. coli* en dos muestras de los perros del grupo A, dos del grupo C y en la totalidad del grupo B. Sin embargo, en todas ellas hubo reducción significativa en el número de UFC/mL comparada con las muestras iniciales (Cuadros 2 y 3). Al comparar los tres grupos en función del impacto en el descenso en UFC/mL en el líquido biliar antes y después del tratamiento se encontraron diferencias

Cuadro 1. Cultivos positivos a bacterias en bilis e hígado, antes y después de la DBE y de los tratamientos antimicrobianos en los cuatro grupos de estudio.

Grupos	N	Cultivo 1 Antes de DBE		Cultivo 2 Después de DBE Pretratamientos		Cultivo 3 Después de DBE Postratamientos	
		Bilis	Hígado	Bilis	Hígado	Bilis	Hígado
*A	8	0	0	8	6	3	0
*B	8	0	0	8	3	8	0
*C	8	0	0	8	4	2	0
D	8	0	0	0	0	0	0

Grupos, antibióticos y dosis utilizadas: \*A: ampicilina/gentamicina 100 mg/kg y 4 mg/kg aplicados cada 8 h durante diez días. \*B: cefalona 10 mg/kg/día en tres dosis durante diez días. \*C: cefalona 20 mg/kg/día en tres dosis durante diez días. D: sin tratamiento. \*DBE: derivación bilio-entérica.

**Cuadro 2.** Perfil microbiológico (número de UFC/mL) obtenido de vesícula biliar diez días después de la DBE, pretatamiento y postratamiento antibacteriano en los tres grupos experimentales.

Grupo A (n = 8)		Grupo B (n = 8)		Grupo C (n = 8)	
Pretratamiento antibacteriano	Postratamiento antibacteriano	Pretratamiento antibacteriano	Postratamiento antibacteriano	Pretratamiento antibacteriano	Postratamiento antibacteriano
<i>E. coli</i> $9.5 \times 10^6$	Negativo	<i>E. coli</i> $119 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $57 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $920 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $9.1 \times 10^4$	Negativo
<i>E. coli</i> $2.7 \times 10^6$ <i>Bacillus piliiformis</i> $0.8 \times 10^6$ <i>Staphylococcus aureus</i> $5.6 \times 10^5$ <i>Streptococcus sp.</i> $5 \times 10^5$	Negativo	<i>E. coli</i> $45 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $28.5 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $7.70 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $3.6 \times 10^4$	Negativo
<i>E. coli</i> $14.7 \times 10^6$	Negativo	<i>E. coli</i> $126 \times 10^6$ <i>Flavobacterium sp.</i> $48 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $1.06 \times 10^6$ Negativo	<i>E. coli</i> $2.3 \times 10^4$	Negativo
<i>E. coli</i> $4.2 \times 10^6$	Negativo	<i>E. coli</i> $205 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $1 \times 10^5$	<i>E. coli</i> $1.75 \times 10^5$	Negativo
<i>E. coli</i> $2.8 \times 10^5$ <i>Flavobacterium sp.</i> $3.4 \times 10^4$	Negativo	<i>E. coli</i> $170 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $287 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $1.12 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $2.09 \times 10^5$	<i>E. coli</i> $2.3 \times 10^2$
<i>E. coli</i> $3.2 \times 10^4$	<i>E. coli</i> $51 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $7.55 \times 10^5$ <i>Streptococcus</i> $\beta$ hemolítico $17.2 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $2.9 \times 10^5$	<i>E. coli</i> $2.3 \times 10^3$	Negativo
<i>E. coli</i> $173 \times 10^6$ <i>Flavobacterium sp.</i> $227 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $195 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $10.5 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $35.5 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $98 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $1.8 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $7.3 \times 10^3$	<i>E. coli</i> $5 \times 10^2$
<i>E. coli</i> $175 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $155 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $1.6 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $81 \times 10^6$ <i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $10 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $2.5 \times 10^6$	<i>E. coli</i> $3.1 \times 10^5$	Negativo

Tratamiento. Grupo A: ampicilina/gentamicina 100 mg/kg y 4 mg/kg/día. Grupo B: cefalona 10 mg/kg/día. Grupo C: cefalona 20 mg/kg/día.

Cuadro 3. Perfil microbiológico (número de UFC/mL) obtenido de hígado después de diez días de DBE, pretratamiento antibacteriano en los tres grupos experimentales.

Grupo A (n = 8)			Grupo B (n = 8)			Grupo C (n = 8)		
Pretratamiento antibacteriano	Posttratamiento antibacteriano	Pretratamiento antibacteriano	Posttratamiento antibacteriano	Pretratamiento antibacteriano	Posttratamiento antibacteriano	Pretratamiento antibacteriano	Posttratamiento antibacteriano	Posttratamiento antibacteriano
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	<i>E. coli</i> $8.8 \times 10^4$	Negativo	Negativo
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	<i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $4.6 \times 10^5$	Negativo	Negativo
						<i>Staphylococcus aureus</i> $3.5 \times 10^4$		
						<i>E. coli</i> $7.35 \times 10^6$		
						<i>Streptococcus sp.</i> $\beta$ hemolítico $13.5 \times 10^6$		
<i>E. coli</i> $7.5 \times 10^3$	Negativo	<i>E. coli</i> $1.3 \times 10^4$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>E. coli</i> $7.5 \times 10^3$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	<i>E. coli</i> $2.5 \times 10^3$	Negativo	Negativo
<i>E. coli</i> $1.7 \times 10^3$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>E. coli</i> $8.5 \times 10^2$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>E. coli</i> $4.2 \times 10^3$	Negativo	<i>Salmonella sp.</i> $2.4 \times 10^4$	Negativo	Negativo	Negativo	<i>E. coli</i> $2.5 \times 10^4$	Negativo	Negativo
<i>E. coli</i> $6 \times 10^3$	Negativo	<i>Salmonella sp.</i> $9 \times 10^3$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tratamiento. Grupo A: ampicilina/gentamicina 100 mg/kg y 4 mg/kg/día. Grupo B: cefalona 10 mg/kg/día. Grupo C: cefalona 20 mg/kg/día.

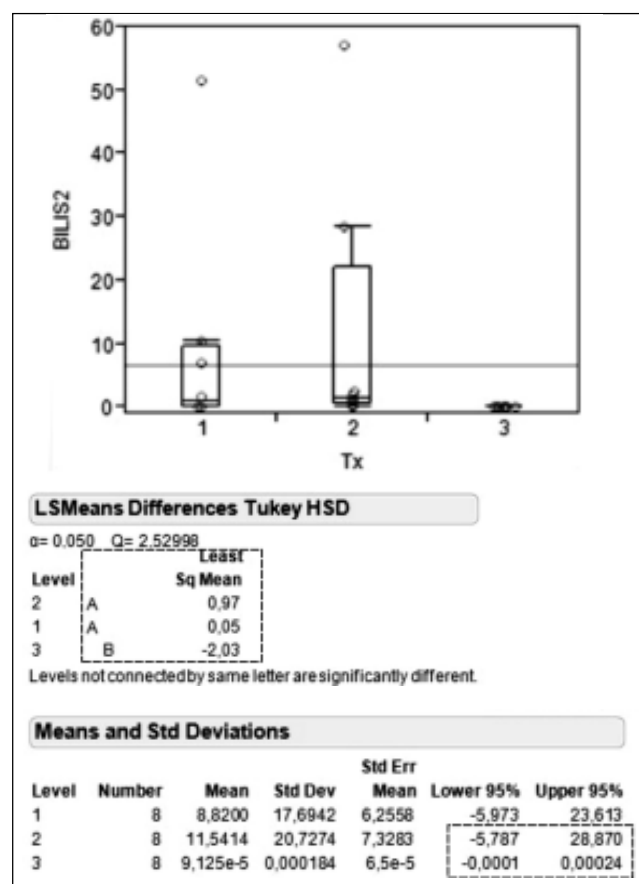


Figura 3. ANOVA, comparación entre grupos A y B vs. C (descenso de UFC/mL en bilis) posterior al tratamiento antibacteriano. En la prueba de Tukey se observa que la diferencia la hace el grupo 3 o C. En la prueba Tukey el grupo 2 y 1 no tienen diferencia estadística por lo que la letra A señala una igualdad o no diferencia significativa y la B implica que es diferente significativamente el grupo C o 3 con respecto a los otros dos. 1 corresponde al grupo A; 2 corresponde al grupo B; 3 corresponde al grupo C.

significativas entre los grupos ( $p = 0.002$ ), demostrando que la diferencia la estableció el grupo C (cefalona 20 mg) (Figura 3).

Los estudios histológicos del hígado al final del estudio revelaron ausencia de daño estructural y no se detectaron cambios inflamatorios ni presencia de polimorfonucleares como se aprecia en la figura 4.

## DISCUSIÓN

Después de la derivación bilioentérica existe una rápida colonización de enterobacterias al hígado, particularmente en pacientes con atresia de vías biliares, en niños la complicación más frecuente suele ser colangitis que se presenta habitualmente en forma temprana y reiterada durante los primeros meses

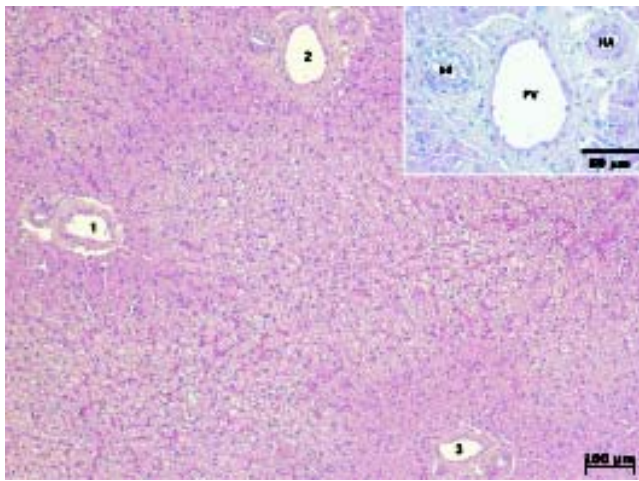


Figura 4. Fotomicrografía de una sección de hígado de perro. La imagen del estudio histológico no mostró signos de cambios en el patrón normal del hígado. Las células hepáticas están distribuidas uniformemente a través del campo. La micrografía muestra tres espacios porta (1, 2, 3), en el ángulo superior derecho se muestra un acercamiento de un espacio porta. HA: arteria hepática. PV: vena porta. bd: conducto biliar. Hematoxilina-eosina, original 10X, inserción 20X.

del postoperatorio;<sup>12</sup> no obstante puede ocurrir en cualquier momento o presentarse tardíamente.<sup>13</sup> El desarrollo de esta complicación representa un incremento adicional a las lesiones hepáticas preexistentes<sup>3,14,15</sup> que comprometen el pronóstico de vida a largo plazo de estos pacientes. Las modificaciones a las técnicas quirúrgicas de DBE originales (anteponiendo una válvula en el asa intestinal conductora del flujo biliar con el propósito de evitar reflujo y colangitis) son controversiales. Algunos estudios clínicos señalan buenos resultados,<sup>16</sup> otros no han demostrado una clara eficacia de estos procedimientos<sup>17</sup> e inclusive hay quienes los consideran francamente inefectivos.<sup>18</sup> Ensayos experimentales hechos con anterioridad, realizados tanto en perros adultos como en cachorros, después de someterse a DBE con y sin mecanismo antirreflujo y seguidos entre tres a 12 meses, demostraron que aquéllos con mecanismo antirreflujo cursaron con menor morbilidad posderivación; sin embargo, en todos ellos hubo contaminación biliar y hepática por enterobacterias y lesiones hepáticas secundarias.<sup>9</sup> En la práctica clínica es común, después de concluida la DBE, prescribir una gama variada de antimicrobianos como: trimetoprim/sulfametoxazol,<sup>19</sup> aminoglucósidos o cefalosporinas,<sup>20</sup> kanamicina<sup>18,21</sup> e inclusive imipenems;<sup>12</sup> en algunas ocasiones estos antibacterianos se asocian con esteroides para tratar de disminuir los procesos inflamatorios pre-existentes.<sup>20,21</sup> El propósito empírico del uso de tan diverso grupo de anti-

bióticos es contrarrestar la invasión de enterobacterias a las vías biliares intrahepáticas después de la DBE. De acuerdo con evidencia experimental, una semana después de la anastomosis bilioentérica se presenta una proliferación bacteriana muy acentuada en el hígado, en la que la *E. coli* es la especie predominante, condicionando una densa infiltración celular, principalmente a base de leucocitos polimorfonucleares en el área portal, aunada al deterioro de la función hepática. Uno a dos meses después de la DBE se observa una disminución significativa del crecimiento bacteriano, aun sin tratamiento, periodo durante el cual se establece la continuidad de revestimiento mucoso del yeyuno al conducto hepático y la infiltración de leucocitos polimorfonucleares en el área portal es menor con predominio de monolitos.<sup>22</sup> De ahí que el objetivo del uso de este tipo de antibióticos después de DBE sea disminuir o anular la proliferación de bacterias, principalmente Gram negativas en el hígado, finalidad que puede ser entorpecida en cualquier momento por el bloqueo del flujo biliar a nivel del asa intestinal derivada,<sup>13</sup> o por estenosis, o dilatación de los conductos intrahepáticos distorsionados, condición que agrava severamente la integridad hepática de los pacientes con esta enfermedad.<sup>3,13,14</sup>

Como se comentó, un problema fundamental presente en estos niños (al igual que otros enfermos que sufren infecciones reiteradas por enterobacterias) es la resistencia que adquieren algunas de estas especies a los antibióticos de uso convencional, sobre todo cuando se emplean frecuentemente en pacientes hospitalizados.<sup>7,23</sup>

Mientras no se diseñen técnicas quirúrgicas que obvien su uso es imprescindible contar con nuevos antimicrobianos; la eficacia observada aunada a la propuesta acción dual de las cefalonas<sup>24,25</sup> puede constituirse como alternativa. En este estudio no se observaron expresiones clínicas ni evidencias histomorfológicas de inflamación o lesión hepática, se asume que esta respuesta es una prueba de la eficacia de los antibióticos empleados en los tres grupos experimentales al término de los primeros diez días posderivación, responsable esta última de la contaminación de todas las muestras de bilis extraídas de la vesícula y un poco más de la mitad de las de hígado. Adicionalmente, el resto de las muestras aún positivas a la presencia de bacterias en bilis sufrieron una reducción significativa en el número de UFC/mL (Cuadro 2 y Figura 3). Por lo tanto, aun al cuestionarse si la persistencia de bacterias en bilis es una buena respuesta y si ésta fue mejor en los grupos A y C con respecto al B, en



ausencia de evidencia de lesión hepática, falta de signos clínicos y reducción significativa del número de UFC/mL después de diez días de tratamiento son buenos indicadores de la eficacia a corto plazo, tanto con la combinación de antibióticos de uso habitual como el de la cefalona puesta a prueba, objetivo principal de la profilaxis antibiótica en pacientes pediátricos con DBE.

El ánimo de evaluar este antimicrobiano fue el de buscar alternativas a los tratamientos establecidos, aunque esto no garantiza que la tasa de velocidad de resistencia que tiene esta molécula o su grupo supere a lo visto con otros antibióticos. Se requiere de otros diseños experimentales para probar la susceptibilidad de las enterobacterias aisladas después del uso de la cefalona. Resta evaluar también dosis superiores y esquemas con intervalos de dosificación más cortos para buscar la eliminación total del número reducido de bacterias en bilis y dilucidar durante cuánto tiempo y cuál sería la dosis más apropiada para el manejo profiláctico a largo plazo de este tipo de derivaciones, dado que los niños con AVB son particularmente sensibles a desarrollar recidivas de colangitis durante los primeros meses posderivación.

De acuerdo con los estudios de cinética del fármaco realizados por Ovalle,<sup>26</sup> el intervalo recomendado de administración por vía intravenosa en perros es de 6 a 8 h. En este experimento se utilizaron concentraciones de 10 y 20 mg/kg IM cada 8 h de manera empírica, pero a fin de generar resultados óptimos es necesario agregar más estudios de farmacocinética/farmacodinamia a estos esquemas en términos de dosificación tipo tiempo-dependiente o concentración-dependiente, en función de su radical  $\beta$ -lactámico o tipo fluoroquinolona, respectivamente. Tanto Ovalle<sup>26</sup> como Pérez-Guille, *et al.*,<sup>27</sup> señalaron que el tiempo de eliminación de la cefalona es muy rápido (vida media menor a 1 h) y la toxicidad muy baja,<sup>28</sup> por lo que se pueden explorar diseños farmacéuticos parenterales u orales<sup>27</sup> utilizando dosis elevadas o diseños con liberación sostenida a fin de garantizar una reducción más acentuada del número de UFC/mL.

## CONCLUSIONES

Este estudio demostró que la combinación de ampicilina/gentamicina o la administración de cefalona a 10 o 20 mg/kg por vía IM tienen una eficacia clínica similar en el tratamiento de la contaminación por enterobacterias a bilis e hígado después una derivación bilioentérica en perros criollos. Por lo tanto, la cefalona se consideraría una alternativa útil en el

manejo preventivo de este tipo de complicaciones. Se requieren otros estudios para evaluar el impacto a largo plazo de la cefalona tanto para cepas normalmente ubicadas en el intestino como para aquellas bacterias multirresistentes a los tratamientos convencionales *vs.* esta complicación postoperatoria.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. Chiharu Murata del Instituto Nacional de Pediatría por su asesoría en la sección estadística.

## REFERENCIAS

1. Kasai M. Treatment of biliary atresia with special reference to hepatic portoenterostomy and its modifications. *Prog Pediatr Surg* 1974; 6: 5-51.
2. Sanghai SR, Shah I, Bhatnagar S, Murthy A. Incidence and prognostic factors associated with biliary atresia in western India. *Ann Hepatol* 2009; 8: 120-2.
3. Shinkai M, Ohhama Y, Take H, Kitagawa N, Kudo H, Mochizuki K, Hatata T. Long-term outcome of children with biliary atresia who were not transplants after the Kasai operation: > 20-year experience at a children's hospital. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48: 443-50.
4. Stringer MD, Davison SM, Rajwal SR, McClean P. Kasai portoenterostomy: 12-year experience with a novel adjuvant therapy regimen. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 1324-8.
5. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006; 119(6, Supl. 1): S20-S28.
6. Nordmann P. Gram-negative bacteria with resistance to carbapenems. *Med Sci* 2010; 26(11): 950-9.
7. Page MGP, Heim J. Prospects for the next anti-pseudomonas drug. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 558-65.
8. Santamaría JA. Eficacia clínica de un preparado intramamario a base de una cefquinolona experimental (CQEPKA-600M) para el tratamiento de la mastitis bovina. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica. México: UNAM; 1997, p. 10-32.
9. Villegas AF, Hernández GR, Candonosa AE, Ávila RE, Cravito MJ. Derivación bilioentérica convergente con mecanismo antirreflujo. Estudio experimental. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1990; 47: 342-8.
10. Versalovic J, Carroll KC, Funken G, Jorgensen JH, Tenover FC, White O, et al. (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th. Ed. Washington, USA: ASM Press; 2011.
11. Box-Cox transformation technique: a review. *The Statistician* 1992; 41: 169-78.
12. Wong KKY, Fan AH, Lan LCL, Lin SCL, Tam PKH. Effective antibiotic regime for postoperative acute cholangitis in biliary atresia-an evolving scene. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 1800-002.
13. Houben C, Phelan S, Davenport M. Late-presenting cholangitis and Roux loop obstruction after Kasai portoenterostomy for biliary atresia. *J Pediatr Surg* 2006; 41: 1159-64.
14. Sookpotarom P, Vejchapipat P, Chittmittrapap S, Chongsri-sawat V, Chandrakamol B, Poovorawan Y. Short-term results of Kasai operation for biliary atresia: Experience from one institution. *Asian J Surg* 2006; 29: 188-92.
15. Hussein A, Wyatt J, Guthrie A, Stringer MD. Kasai portoenterostomy-new insights from hepatic morphology. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 322-6.



16. Muraji T, Tsugawa C, Nishujima E, Satoh S, Takamizawa S, Ise K, Maekawa T. Surgical management for intractable cholangitis in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 1713-5.
17. Nio M, Ohi R, Miyano T, Saeki M, Shiraki K, Tanaka K. Five- and 10-year survival rates after surgery for biliary atresia: A report from the Japanese Biliary Atresia Registry. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 997-1000.
18. Ogasawara Y, Yamataka A, Tsukamoto K, Okada Y, Lane GJ, Kobayashi H, Miyano T. The intussusceptions antireflux valve is ineffective for preventing cholangitis in biliary atresia: a prospective study. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1826-29.
19. Bowles BJ, Bdul-Ghani A, Zhang JZ, Shim WKT. Fifteen years experience with antirefluxing biliary drainage valve. *J Pediatr Surg* 1999; 34: 1711-4.
20. Kobayashi H, Yamakata A, Koga H, Okazaki T, Tamura T, Urao M et al. Optimum prednisolone usage in patients with biliary atresia postportoenterostomy. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 327-30.
21. Dillon PW, Owings E, Cilley R, Field D, Curnow A, Georgeson K. Immunosuppression as adjuvant therapy for biliary atresia. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 80-5.
22. Chiang J-H, Lee S-Y, Chen W-J, Hsieh C-S, Chang NN-K, Lo S-K. Changes in bacterial concentration in the liver correlate with that in the hepaticojejunostomy after bile duct reconstruction: Implication in the pathogenesis of postoperative cholangitis. *World J Surg* 2001; 25: 1512-8.
23. Rice LB. The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Curr Opin Microbiol* 2009; 12: 476-81.
24. Sumano LH, Ocampo CL, Azuara J. Clinical efficacy of cephalone-1 (a new cephalosporin-fluoroquinolone antibacterial) in dogs with various respiratory bacterial infections. *J Anim Vet Adv* 2003; 2: 675-80.
25. Sumano LH, Ocampo CL, Azuara J. Clinical efficacy of a cephalone (a new cephalosporin-fluoroquinolone antibacterial) in dogs with various respiratory bacterial infections. Abstract en: Second International Conference on Antimicrobial Agents in Veterinary Medicine (AAVM). Ottawa, Canada, June 13-17, 2004.
26. Ovalle AI, Sumano H. Farmacocinética de la cefaquinolona (CQEPKA) en perros. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica. México: UNAM; 1996.
27. Pérez GB, Sumano LH, Villegas AF, Soriano RR, González ZF, Jiménez BL, et al. Pharmacokinetics of cephalone (CQ-M-EPCA) in rats after oral, intraduodenal and intravenous administration. *Int J of Pharm* 2004; 282: 87-94.
28. Sumano LH, Ocampo CL, Mateos TG. Pharmacokinetics, tolerance and clinical efficacy of a new antibacterial CQ-M-EPCA for the treatment of respiratory diseases in dogs affected with various respiratory bacterial infections. *Isr J Vet Med* 1998; 53: 64-8.

Reimpresos:

**Dr. Fernando Villegas-Álvarez**

Instituto Nacional de Pediatría

Insurgentes Sur, Núm. 3700-C

Col. Insurgentes Cuicuilco

04530, México, D.F.

Correo electrónico: fvadiaz@prodigy.com.mx

Recibido el 30 de mayo 2011.

Aceptado el 8 de septiembre 2011.