

Incidencia de la traslocación bacteriana en cuatro modelos diferentes de intestino corto experimental*

A.B. Asensio¹, N. García-Urkia¹, P. Aldazabal¹, P. Bachiller³, J.M. García-Arenzana⁴, I. Eizaguirre²

¹Unidad Experimental. ²Servicio de Cirugía Pediátrica. ³Farmacia, ⁴Microbiología. Complejo Hospitalario Donostia, San Sebastián.

RESUMEN: La longitud del intestino remanente o la presencia o ausencia de la válvula ileocecal (VIC) así como el riesgo de infección afectan a la evolución de los pacientes con síndrome de intestino corto en los que, además, la dismotilidad, o el sobrecrecimiento bacteriano favorecen la aparición de traslocación bacteriana (TB).

El objetivo de este trabajo experimental controlado fue estudiar la incidencia de la TB, en cuatro modelos diferentes de resección intestinal, en animales con alimentación oral o bajo nutrición parenteral total (NPT). Se utilizaron 103 ratas Wistar que se asignaron aleatoriamente a 6 grupos: Grupo 1 (n=26): grupo control, animales sin ningún tipo de manipulación. Grupo 2 (n=14): resección no letal del 80% del intestino delgado y alimentación oral. Grupo 3 (n=15): como el grupo 2, pero añadiendo a la resección la VIC. Grupo 4 (n=27): sin resección intestinal, mantenidos exclusivamente con NPT. Grupo 5 (n=11): resección idéntica al grupo 2, mantenidos exclusivamente con NPT. Grupo 6 (n=10): resección del 90% del intestino delgado, incluyendo VIC y ciego, mantenidos exclusivamente con NPT.

Al final de los 10 días que duró el experimento los animales se sacrificaron y se obtuvieron muestras de sangre periférica, sangre portal y ganglios linfáticos mesentéricos para cultivo microbiológico.

El grupo 1 muestra una menor incidencia de TB (8%) que los de animales resecados (grupos 2, 3, 5 y 6, 93%, 60%, 91%, 60%, $p < 0.05$) o que el grupo no resecado y con NPT (grupo 4, 52%, $p < 0.05$). Cuando la resección incluye la VIC en animales con alimentación oral, la TB también es menor (grupo 3 vs grupo 2, 60% vs 93%, $p < 0.05$). Los animales resecados con NPT también mostraron una disminución de la TB cuando se incluyen la VIC y el ciego (grupo 6 vs grupo 5, 60% vs 91%, $p < 0.05$).

En conclusión: 1. La TB espontánea en el grupo control es de un 8%. 2. Los animales con NPT exclusivamente muestran una TB del 52%. 3. La resección intestinal "per se" provoca una alta incidencia de TB. 4. Cuando la resección incluye la VIC, la TB es menor, ya sea bajo NPT o con dieta oral.

PALABRAS CLAVE: Síndrome de intestino corto; Resección intestinal, Nutrición parenteral total; Válvula ileocecal.

Correspondencia: Iñaki Eizaguirre, Plaza del Deporte, 8- 3º A, 20009 San Sebastián

*Trabajo presentado en el Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica, en Sevilla, Mayo de 2001

Recibido: Mayo 2001

Aceptado: Diciembre 2001

INCIDENCE OF BACTERIAL TRANSLOCATION IN FOUR DIFFERENT MODELS OF EXPERIMENTAL SHORT BOWEL SYNDROME

ABSTRACT: The outcome of patients with short bowel syndrome is influenced by factors such as the length of remnant intestine or the presence or absence of ileocecal valve (ICV). Gram-negative sepsis, the main cause of mortality in this group of children, is probably due to bacterial translocation (BT), because after gut resection there are a number of circumstances that favour its occurrence, being the most known intestinal dysmotility, bacterial overgrowth, loss of gut-associated lymphoid tissue, total parenteral nutrition (TPN) and fasting related mucosal atrophy.

The aim of this experimental controlled study was to test the incidence of BT after four different types of gut resection, in animals fed orally or receiving TPN.

Hundred and three adult Wistar rats bred and raised in our facilities according to European Union Regulations were randomly divided in six groups: -Group 1 (n=26): non-manipulated animals, served as a control. -Group 2 (n=14): 80% non-lethal small bowel resection, fed orally. -Group 3 (n=15): same resection as group 2 but including ICV. Rat chow ad libitum. -Group 4 (n=27): non-resected fasting animals receiving all-in-one TPN solution. -Group 5 (n=11): same resection as group 2, but fasting and receiving TPN. -Group 6 (n=10): 90% small bowel resection, including cecum and ICV, fasting and TPN.

The animals were maintained for 10 days in individual metabolic cages, and, at the end of the experiment, were bled by portal and cardiac puncture. Mesenteric lymph nodes, peripheral and portal blood samples were cultured for BT.

Non-manipulated rats (group 1) had lower BT incidence (8%) than resected ones (groups 2, 3, 5 and 6, 93%, 60%, 91%, 60%, $p < 0.05$) or animals non-resected, receiving TPN (group 4, 51%, $p < 0.05$). When resection included ICV in orally fed rats BT index was also lower (group 3 vs group 2, 60% vs 91%, $p < 0.05$). In TPN resected animals a drop was also found in BT when ICV and cecum were added to small bowel resection (group 6 vs group 5, 60% vs 91%, $p < 0.05$).

In conclusion: 1. Gut resection is associated to a high degree of BT, even if the animals are fed orally. 2. Resection including ICV, produced less BT. 3. TPN-related BT was shown in half of the animals non resected. 4. TPN-resected rats had also less BT when ICV and cecum were removed.

KEY WORDS: Short bowel syndrome; Bacterial translocation; Intestinal resection; Ileocecal valve.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome del Intestino Corto (SIC) plantea en muchas ocasiones un pronóstico incierto, dado que en los casos más severos la mortalidad sigue siendo elevada.

En principio, el factor pronóstico más importante es la longitud del intestino remanente, que si supera el 30%, permite mantener una autonomía funcional. Cuando es inferior, el pronóstico empeora notablemente⁽¹⁾.

En este aspecto, la conservación de la válvula ileocecal (VIC) se ha considerado siempre como un factor de buen pronóstico en el SIC, enlenteciendo el paso del contenido ileal al ciego, y actuando como barrera contra el reflujo de la flora bacteriana cólica hacia el intestino delgado^(1,2). Sin embargo, la supervivencia general no depende de su presencia o ausencia⁽³⁻⁷⁾.

Otro factor importante, es la sépsis por Gram negativos tan frecuente en pacientes con SIC. Es la causa principal de mortalidad en este grupo de niños. Ésta puede ser debida a la traslocación bacteriana (TB), proceso por el que gérmenes intraluminales atraviesan la pared intestinal, y pasan a los ganglios linfáticos mesentéricos o al hígado a través de la circulación portal. El sistema linfático y el propio hígado actúan como barrera, pero algunos de estos gérmenes pueden llegar a la circulación general, con el riesgo infeccioso que ello implica^(8,9).

En el SIC, la insuficiente absorción intestinal de nutrientes, nos obliga a utilizar, sobre todo en el niño, la Nutrición Parenteral Total (NPT) como elemento de soporte nutricional imprescindible, asumiendo las complicaciones derivadas de ésta, del catéter central, y favoreciendo de igual modo la tan frecuente TB en estos pacientes⁽¹⁰⁾.

El objeto de este trabajo es estudiar la incidencia de la TB en cuatro modelos de resección intestinal, en animales con alimentación oral o bajo NPT.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio experimental, controlado, con ciento tres machos adultos Wistar (CRL: (WI) BR. Criffa, Barcelona), de entre 200-300 g. criados y mantenidos en nuestras instalaciones de acuerdo con la legislación vigente⁽¹¹⁾, que se asignaron aleatoriamente a cada uno de los 6 grupos siguientes:

- Grupo 1 (n=26): Grupo control, animales sin ningún tipo de manipulación quirúrgica con acceso libre a comida (pienso de mantenimiento A04 Panlab, Barcelona) y agua.
- Grupo 2 (n=14): Animales con resección no letal del 80% del intestino delgado, con acceso libre a comida y agua.
- Grupo 3 (n=15): Animales como el grupo 2, pero añadiendo a la resección la VIC.
- Grupo 4 (n=27): Animales sin resección intestinal, alimentados exclusivamente con NPT.

- Grupo 5 (n=11): Resección idéntica al grupo 2, alimentados exclusivamente con NPT.
- Grupo 6 (n=10): Resección del 90% del intestino delgado, incluyendo VIC y ciego, alimentados exclusivamente con NPT.

A los animales con NPT (grupos 4, 5 y 6), se les colocó bajo anestesia general (Atropina 0,1mg/kg i.m., Ketamina 60 mg/kg i.m., Diacepan 3 mg/kg i.m.), un catéter de silicona (Silastic 0,6 x 1,1 di/de. Dow Corning Corp.) en vena cava superior a través de la yugular interna. El catéter se exteriorizó tras tunelización subcutánea por la línea media dorsal interescapular. Una vez en el exterior, continúa a través de un arnés y un muelle metálico de protección hasta una conexión giratoria (Swivel, Harvard Apparatus Ltd. USA), su extremo libre se conectó a una bomba de infusión de jeringa (Harvard syringe infusion pump 22. Harvard apparatus Ltd. USA), a través de la cual se les infundió la NPT correspondiente (300 mL/kg/24 horas, con un aporte total de 280 kcal/kg/24 horas)⁽¹²⁾.

A los animales ressecados (grupos 2, 3, 5 y 6), se les practicó bajo anestesia general, una laparotomía media, exteriorizando el intestino, e identificando sus porciones:

En los grupos 2 y 5, la resección intestinal se realizó a 10 cm del ángulo duodeno-yeyunal incluyendo todo el intestino delgado hasta 10 cm antes de la válvula ileocecal.

En el grupo 3, la resección intestinal se realizó a 20 cm del ángulo duodeno-yeyunal incluyendo todo el intestino delgado y la VIC.

En el grupo 6, la resección intestinal se realizó a 10 cm del ángulo duodeno-yeyunal, incluyendo la VIC y el ciego.

A lo largo de los 10 días que duró el experimento, los animales permanecieron alojados en jaulas metabólicas individuales, en ambiente controlado, con ciclos controlados de luz/oscuridad (12h), aire acondicionado (15 renovaciones/h) y 18-22°C de temperatura, cumpliendo la normativa legal⁽¹³⁾.

Al final del estudio los animales fueron anestesiados, y en condiciones estériles, exanguinados por punción portal y cardíaca. Se tomaron muestras para cultivo de ganglios linfáticos mesentéricos, sangre portal y sangre periférica.

Las muestras de sangre portal (1ml) y periférica (2 ml) se inocularon en frascos de hemocultivo (Bacter, Bencton-Dickison, Maryland, USA) y se incubaron en un sistema automático de hemocultivo (Bacter 9240, Bencton-Dickinson, Maryland, USA) durante siete días. Las muestras de ganglios linfáticos mesentéricos se mezclaron en la misma cantidad de suero salino estéril, se homogeneizaron y se cultivaron con una asa calibrada de 100 µl (0,1 ml) en placas de Agar soja tripticase con sangre desfribinada de caballo, agar manitol y agar Mac Conkey. Las placas se incubaron durante 48 horas a 35°C.

La identificación de las bacterias se hizo por medios convencionales: catalasa, coagulasa, bilisesculina en los Gram-positivos, y mediante galería para la identificación de Enterobacterias (Api 20E, Merieux, Francia) en los Gram-negativos.

Tabla I Traslocación bacteriana en los diferentes territorios estudiados

	<i>Ganglio Linfát. Mesentérico</i>		<i>Sangre Portal</i>		<i>Sangre Periférica</i>		<i>Traslocación TOTAL</i>	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Grupo 1 n:26	0	0%	2	8%	0	0%	2	8%
Grupo 2 n:14	11	78%	5	35%	4	28%	13	93%
Grupo 3 n:15	8	53%	6	40%	4	26%	9	60%
Grupo 4 n:27	9	33%	3	11%	6	22%	14	52%
Grupo 5 n:11	9	81%	5	45%	5	45%	10	91%
Grupo 6 n:10	5	50%	3	30%	0	0%	6	60%

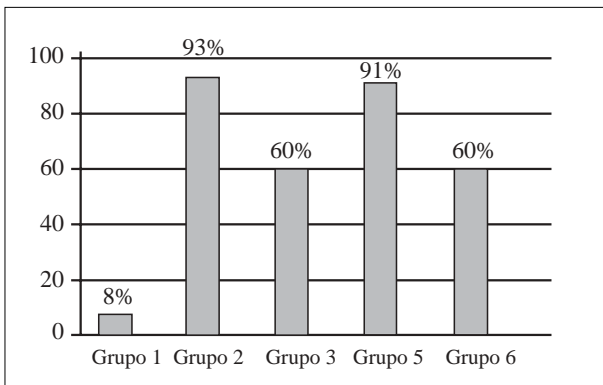


Figura 1. Incidencia de TB en los diferentes modelos de resección.

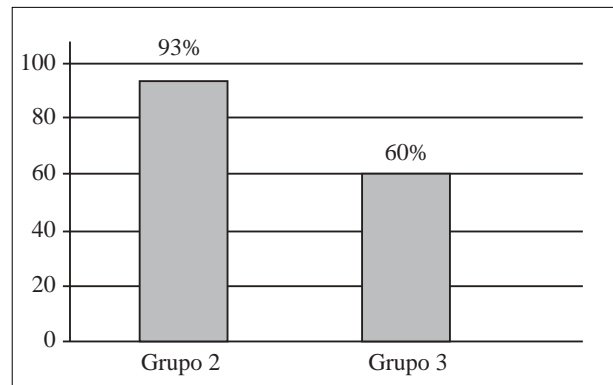


Figura 2. Efecto de la ausencia de VIC tras la resección intestinal, sobre la TB.

El cultivo de sangre tanto portal como periférica, se consideró positivo de forma cualitativa. En el caso del ganglio mesentérico, se consideró positivo un crecimiento ≥ 100 UFC/g.

Se definió la traslocación bacteriana como la presencia de gérmenes entéricos en cualquiera de los campos observados.

Todas las variables de cada grupo se describieron por métodos estadísticos comunes. Las comparaciones entre grupos se hicieron mediante test de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Los porcentajes de TB en cada uno de los grupos de estudio incluyendo los diferentes territorios observados, se hallan reflejados en la Tabla I.

Para valorar el efecto de la resección intestinal sobre la TB se utilizaron 5 grupos de animales (Fig. 1). El grupo control (grupo 1), sin ningún tipo de manipulación quirúrgica, muestra una menor incidencia de TB (8%), frente a los grupos 2, 3, 5 y 6, todos ellos con una resección mínima básica del 80% de intestino delgado, con 93%, 60%, 91% y 60% respectivamente ($p < 0,05$).

Para valorar el efecto sobre la TB de adicionar a la resección básica, la VIC, en animales con alimentación oral, se

utilizaron 2 grupos de animales (Fig. 2). El grupo 3 al que se le incluye la resección de la VIC, mostró significativamente una menor incidencia de TB (60%), frente a su control (grupo 2) con la resección básica mencionada, en el que la TB es de un 93% ($p < 0,05$).

Para valorar el efecto sobre la TB de adicionar a la resección básica, la VIC más el ciego, se utilizaron dos grupos (5 y 6) de animales (figura 3). Ambos grupos llevan NPT, ya que este último modelo de resección es letal con alimentación oral. En este caso, los animales a los que se les añadió la resección de la VIC y del ciego (grupo 6), mostraron una disminución significativa de la TB, frente al grupo de resección básica (grupo 5), con un 60% y 91% respectivamente ($p < 0,05$).

Para valorar el efecto sobre la TB de la resección básica bajo NPT, y a su vez constatar que la NPT, “per sé”, induce TB, se utilizaron tres grupos (1, 4 y 5) (figura 4). En principio, podemos constatar que la NPT aumenta significativamente ($p < 0,05$) la incidencia de TB, ya que el grupo 4 (con NPT sin resección), presenta una incidencia de TB del 52%, frente al 8% del grupo 1 sin manipulación quirúrgica y con dieta oral. Partiendo de esta base podemos constatar igualmente, ratificando los resultados de los anteriores modelos, que la resección bajo NPT (grupo 5), aumenta significativamente la incidencia de TB ($p < 0,05$), frente al grupo que ba-

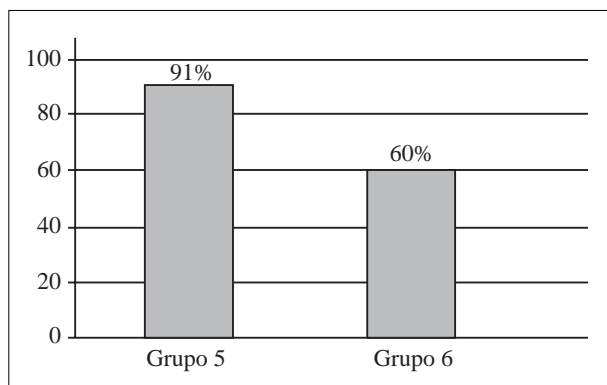


Figura 3. Efecto de la ausencia de VIC y Ciego tras la resección intestinal, sobre la TB.

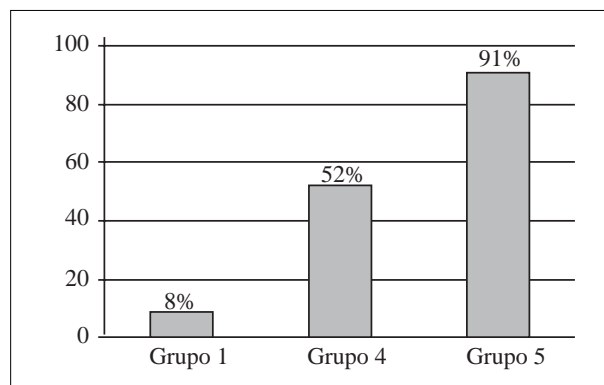


Figura 4. Efecto de la NPT y de la resección intestinal bajo NPT, sobre la TB.

jo NPT, no lleva manipulación quirúrgica (grupo 4), con un 91% y 52% respectivamente.

El germen más frecuentemente encontrado fue *Escherichia coli* (50%), seguido por *Proteus mirabilis* (17%), *Enterococcus* (14%) y *Klebsiella* (10%). En el 9% restante se engloban diversas enterobacterias, no encontrándose ningún microorganismo anaerobio. En la mayoría de los casos se ha encontrado un único germen marcador de TB, sólo en un 12% de los cultivos positivos se han encontrado gérmenes múltiples.

DISCUSIÓN

En la rata Wistar existe una TB espontánea de entre el 5-10% de los casos⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Este dato se confirma en nuestro grupo control, con un 8%, que se localiza exclusivamente a nivel de sangre portal. A nivel sistémico, los resultados han sido siempre negativos.

La administración de NPT favorece la TB⁽¹⁰⁾. En nuestro estudio, como era esperable, ha habido un aumento significativo de la incidencia de traslocación, que ha sido fundamentalmente a nivel de ganglio mesentérico, y con un 22% a nivel sistémico, siendo esta última más grave, ya que los gérmenes han atravesado los filtros hepático y linfático. Por ello, el que casi una de cada cuatro ratas que reciben NP tengan cultivos positivos en sangre periférica, quiere decir, que la TB inducida por la NPT es de gran importancia. Aunque hay trabajos que achacan a la propia NPT la TB⁽¹⁰⁾, es muy probable, que el aplanamiento de las vellosidades intestinales condicionado por el ayuno, sea el factor más importante.

La resección intestinal, con o sin NPT, induce una importante TB. En el SIC, hay varias circunstancias que hacen frecuente la TB, la dismotilidad, el sobrecrecimiento bacteriano, la pérdida de tejido linfoide asociado al intestino, la NPT y la atrofia de la mucosa asociada al ayuno, hecho que ha sido puesto de manifiesto por otros autores⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Nosotros lo podemos confirmar, con un 91% y 93% con y sin NPT. En ambos casos, el mayor índice de TB se pro-

duce a nivel de ganglio mesentérico, aunque siempre con un alto índice a nivel sistémico, que bajo NPT llega a ser de un 45%.

La VIC juega un importante papel en el SIC. Su presencia regula la motilidad intestinal, enlenteciendo el paso del contenido ileal al ciego y facilitando la absorción, pero aumenta el sobrecrecimiento bacteriano y puede favorecer la traslocación, aumentando el riesgo de septicemia de origen intestinal⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. También actúa como barrera contra el reflujo de la flora bacteriana cólica hacia el intestino delgado^(17,18).

Llama la atención, que cuando la VIC se incluye en el segmento reseñado, la TB es menor, hecho que ha sido publicado previamente, y que probablemente, es debido a que la presencia de la válvula condiciona un enlentecimiento en el tránsito intestinal, favoreciendo el contacto de los gérmenes con la mucosa^(14,15).

En las diversas series revisadas, la duración del tratamiento con NPT fue menor por efecto de la VIC, y la proporción de pacientes que pudieron dejar la NPT fue mayor cuando la VIC estaba presente⁽³⁻⁷⁾. Curiosamente, la supervivencia general no se vio afectada por la VIC. De 154 casos procedentes de 3 series^(3,6,7) sobrevivieron 125 (81%), 68/83 con VIC (82%) y 57/71 sin VIC.

Una publicación de Kaufman et al., sin embargo, contradice en parte estos datos. En su serie de 49 niños con SIC encontró que la duración de la NPT, en los niños que pudieron dejarla, no fue mayor en aquellos que no tenían VIC, sin embargo, todos los niños NPT-dependientes tenían falta de VIC. También vio que no había mayor sobrecrecimiento bacteriano en los que tenían VIC⁽¹⁹⁾.

El ciego, como gran reservorio de bacterias, podría tener alguna influencia en la TB de los niños con SIC⁽²⁰⁾, pero hemos demostrado en trabajos previos, que su ausencia, no influye significativamente modulando la incidencia de TB en esta situación⁽¹⁵⁾. Concretamente, respecto al papel del ciego, en nuestro estudio, no podemos sacar conclusiones, ya que no contamos con grupo de comparación.

La medida más habitual, empleada en la actualidad, para prevenir la TB en el SIC, es la descontaminación intestinal selectiva, que implica la utilización de antibióticos orales (Tobramicina, Polimixina E, entre otros...), que permiten erradicar de la luz intestinal los gérmenes Gram-negativos que con más frecuencia traslocan⁽²¹⁾.

También, se ha ensayado con el empleo de factores de tróficos, que permitan un crecimiento más rápido de la mucosa aumentando su absorción, como la GH⁽²²⁻²⁴⁾, el EGF⁽²⁵⁻²⁷⁾, la Insulina⁽²⁸⁻²⁹⁾ entre otros, como factores estimulantes de la adaptación intestinal, aunque algunos de estos resultados son contradictorios⁽³⁰⁻³²⁾.

Otro factor a mencionar, es la administración de colestokuina (CCK), ya que la privación de la alimentación enteral supone una falta de estímulo para la secreción de factores como éste. La CCK, es un neuropéptido secretado por las células endocrinas de la mucosa del tracto intestinal, que actúa por una parte mejorando el flujo biliar, y por tanto, la colestasis⁽³³⁾, y por otro, evitando la disminución de los niveles de IgA⁽³⁴⁾. La IgA, constituye el principal componente del sistema defensivo de la mucosa intestinal, previniendo la adherencia bacteriana, la cual, se ve muy disminuida ante la ausencia de estímulo enteral⁽³⁵⁾. La CCK, tiene además un efecto estimulador de la motilidad intestinal⁽³⁶⁾, tan a menudo alterada en estos pacientes, y que favorece el sobrecrecimiento bacteriano y la traslocación⁽³⁷⁾.

Además de la IgA, existen otros factores inmunitarios que se ven afectados por esta situación, como son las subpoblaciones linfocitarias, que en general disminuyen en todos los estamentos del tejido linfoide asociado al intestino (GALT), correlacionándose además con la disminución de la IgAs, aunque a este respecto, hay datos contradictorios en la bibliografía^(38,39).

Por otro lado, y muy recientemente, se estudia el empleo de probióticos, microorganismos que cuando son ingeridos, colonizan el intestino, se establecen como integrantes de su flora y ejercen un efecto beneficioso en el huésped⁽⁴⁰⁾.

Han sido recomendados en diversas situaciones patológicas: tratamiento y prevención de diarreas agudas, alergia alimentaria, alteraciones inmunitarias, procesos inflamatorios intestinales, aumento de los niveles séricos de colesterol y prevención de la formación de tumores intestinales⁽⁴⁰⁾.

El mecanismo a través del cual los probióticos actúan, no es bien conocido. En este sentido se han postulado: producción de sustancias que inhiben el crecimiento bacteriano⁽⁴¹⁾, inhibición competitiva de la adhesión bacteriana⁽⁴²⁾, consumo competitivo de nutrientes, modificación de los receptores de toxinas a través de mecanismos enzimáticos y estimulación de la respuesta inmune⁽⁴³⁾.

Estos mecanismos de acción están siendo investigados tanto en experimentación humana (adultos y niños) como en modelos animales. En estos últimos, las modificaciones introducidas por la adición de probióticos, pueden investigarse a través del estudio de los cambios cuanti y cua-

litativos de la microflora intestinal, por su influencia a nivel histológico en órganos lesionados de forma controlada, o sobre la traslocación bacteriana inducida por medio de diferentes técnicas⁽⁴⁴⁾.

Podemos concluir que la rata Wistar sin manipulación alguna, presenta una TB espontánea de un 8%. Estos animales, alimentados exclusivamente con NPT, muestran un aumento de la incidencia de TB (51%). La resección intestinal «per se», provoca también una alta incidencia de TB (93%). Y cuando la resección incluye la VIC, la TB disminuye, ya sea bajo NPT o con dieta oral.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Marian Ostáriz y Miguel Fermín su imprescindible trabajo de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Galea MH, Holliday H, Carachi R, Kapila L. Short-Bowel Syndrome: A collective review. *J Pediatr Surg* 1992;**27**:592-596.
2. Verga G, Spina P, Minniti S, Verga L. A follow-up study in individuals subjected to ileo-cecal resection in infancy and childhood. *Minerva Pediatr* 1996;**48**:365-371.
3. Kurkchubasche AG, Smith SD, Rowe MI. Catheter sepsis in short bowel syndrome. *Arch Surg* 1992;**1217**: 21-25.
4. Cooper A, Floyd TF, Ross III AJ, Bishop HC, Templeton JM, Ziegler MM. Morbidity and mortality of short-bowel syndrome acquired in infancy: an update. *J Pediatr Surg* 1984;**19**:711-718.
5. Bianchi A. Longitudinal intestinal lengthening and tailoring: results in 20 children. *J R Soc Med* 1997;**90**:429-432.
6. Goulet OJ, Revillon Y, De Potter S, Jan D, Maurage C, Lortat-Jacob S et al. Neonatal short bowel syndrome. *J Pediatr* 1991;**119**: 18-23.
7. Georgeson KE, Breaux CW. Outcome and intestinal adaptation in neonatal short-bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 1992;**27**:344-350.
8. Lloyd DA. Central venous catheters for parenteral nutrition: a double-edged sword. *J Pediatr Surg* 1996;**32**:943-948.
9. Pierro A, Van Saenne HFK, Donnell SC. Microbial translocation in neonates and infants receiving long-term parenteral nutrition. *Arch Surg* 1996;**131**:176-179.
10. Alverdy JC, Aloys E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1988;**104**:185-190.
11. Diario Oficial de las Comunidades Europeas 18-12-86 del NL 358/1 al NL 358/28.
12. Martin FM, Wenneerg A, Khilberg R. Total parenteral nutrition with different ratios of fat, carbohydrates and lipids at two energy levels: an animal study. *JPEN* 1985;**9**:521-547.
13. Real Decreto 223/1988 de 14 de Marzo. BOE nº67, 1988:8509-8512.
14. Schimpl G, Feierl G, Linni K, Uitz C, Ozbey H, Hollwarth ME. Bacterial translocation in short-bowel syndrome in rats. *Eur J Pediatr Surg* 1999;**9**:224-227.

15. Eizaguirre I, Aldazábal P, Asensio AB, García-Urkía N, Barrena MJ, García-Arenzana JM, et al. *La infección en el intestino corto bajo nutrición parenteral total: efecto de la nutrición parenteral, de la resección intestinal y de la adaptación intestinal, sobre la translocación bacteriana*. En "Premios Nutrición Infantil Nestlé 2000". Edic. Aucona S.A. Barcelona, 2000.
16. Eizaguirre I, Aldazábal P, Barrena MJ. Bacterial translocation is favoured by the preservation of the ileocecal valve in experimental short bowel with total parenteral nutrition. *Eur J Pediatr Surg* 1999;**9**:220-223.
17. West K, Malangoni MA, Weber TR, Grosfeld JL. The effect of live E.coli and endotoxin mortality following massive distal bowel resection. *J Pediatr Surg* 1981;**16**:846-849.
18. Chandra RK. Immunity and infection. En: Kinney JM. *Nutrition and metabolism in patient care*. Ed. W.B. Saunders 1998;598-604.
19. Kaufman SS, Loseke CA, Lupo JV, Young RJ, Murray ND, Vanderhoof JA et al. Influence of bacterial overgrowth and intestinal inflammation on duration of parenteral nutrition in children with short bowel syndrome. *J Pediatr* 1997;**131**:356-361.
20. Sahin M, Yol S, Ciftci E, Baykan M, Ozer S, Akoz M, et al. Does large-bowel enema reduce septic complications in acute pancreatitis? *Am J Surg* 1998;**176**:331-334.
21. Spath G, Hirner A. Microbial translocation and impairment of mucosal immunity induced by an elemental diet in rats prevented by selective decontamination of the digestive tract. *Eur J Surg* 1998;**164**:223-228.
22. Byrne TA, Morrissey TB, Nattakom IV, Ziegler TR, Willmore DW. Growth hormone, glutamine and modified diet enhance nutrient absorption in patients with severe short bowel syndrome. *JPEN* 1995;**19**:296-302.
23. Gómez de Segura IA, Prieto Y, Grande AG. Growth hormone reduces mortality and bacterial translocation in irradiated rats. *Acta Oncol* 1998;**37**:179-185.
24. Kviets J. *Proceedings of the 11th Southeast European Congress on Pediatric Surgery*. 1998 Graz, Austria.
25. Okuyama H, Urao M, Lee D, Drongowsky RA, Coran AG. The effect of epidermal growth factor on bacterial translocation in newborn rabbits. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:225-228.
26. Helmrath MA, Shin CE, Erwin CR, Warner BW. Epidermal growth factor up regulates the expression of its own intestinal receptor after small bowel resection. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:229-234.
27. Fiore NF, Ledniczky G, Liu Q, Orazi A, Du X, Willians DA, et al. Comparison of interleukin-11 and epidermal growth factor of residual small intestine after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:24-29.
28. Chao JC, Donovan S. Effects of insulin-like growth factors and epidermal growth factors on mitogenesis and disaccharidase activity in rat (IEC-6) and human (Fhs 74 Int) intestinal cells. *Chin J Physiol* 1996;**39**:253-263.
29. Chono E, Kudokawa T, Oda C, Kawasaki K, Yakamoto T, Ishibasi S. Expression of rac1 protein in the crypt-villus axis of rat small intestine: in reference to insulin action. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;**233**:455-458.
30. Shulman DI, Hu CSW, Duckett G. Effects of short-term growth hormone therapy in rats undergoing 70% small intestinal resection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;**14**:3-11.
31. Van der bos E et al. *Proceedings of the 11 th Southeast European Congress on Pediatric Surgery*. 1998 Graz, Austria.
32. Vanderhoof JA, Kollman KA, Griffin S, Adrian TE. Growth hormone and glutamine do not stimulate intestinal adaptation following massive small bowell resection in the rat. *JPEN* 1997;**25**:327-331.
33. Teitelbaum DH, Han-Markey T, Drogowski RA, Coran AG, Bayar B, Gieger JD, et al. Use of cholecystokinin to prevent the development of parenteral nutrition-associated cholestasis. *JPEN* 1997;**21**:100-103.
34. Alverdy J, Stem E, Poticha S, Bannoch D, Adrian T. Cholecystokinin modulates mucosal immunoglobulin A function. *Surgery* 1997;**122**:386-393.
35. Alverdy J, Chi HS, Sheldon GF. The effect of parenteral nutrition on gastrointestinal immunity. The importance of enteral stimulation. *Ann Surg* 1985;**202**:681-684.
36. Wang X, Soltesz V, Axelson J, Anderson R. Cholecystoquinin increases small intestinal motility and reduces enteric bacterial overgrowth and translocation in rats with surgically induced acute liver failure. *Digestion* 1996;**57**:67-72.
37. Vanderhoof JA, Short-bowel syndrome. *Clin Perinatol* 1996;**23**:377-386.
38. King BK, Li J, Kudsk KA. A temporal study of TPN-induced changes in gut-associated lymphoid tissue and mucosal immunity. *Arch of Surg* 1997;**132**:1303-1309.
39. Aldazabal P, Eizaguirre I, Barrena MJ, García-Arenzana JM, Ariz C, Cuadrado E. Bacterial translocation and T-lymphocyte populations in experimental short bowel syndrome. *Eur J Pediatr Surg* 1998;**8**:247-250.
40. De Roos NM, Katan MB. Effect of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 2000;**71**:405-411.
41. Jack RW, Tagg JR, Ray B. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiol Res* 1995;**59**:171-200.
42. Duffy LC, Zielezny MA, Rieppenf- Talty M. Effectiveness of Bifidobacterium bifidum in mediating the clinical course of murine rotavirus diarrhea. *Pediatr Res* 1994;**35**:590- 695.
43. Spanhaak S, Havennar R, Schaafsma G. The effect of consumption of milk fermented by Lactobacillus casei strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Nutr* 1998;**52**:1-9.
44. Adawi D, Kasrawi B, Molin G, Jepsson B. Effect of Lactobacillus supplementation with and without arginine on liver damage and bacterial translocation in a acute liver injury model in the rat. *Hepatology* 1997;**25**:642-647.