



Laboratorial alteration preceding staphylococcal infection clinical manifestations after intestinal transplantation

Alteración laboratorial que precede a las manifestaciones clínicas de infección estafilocócica postrasplante intestinal

Wilma Carvalho Neves-Forte,¹ Alliny Oliveira Carvalho-Galvan,¹ Pedro Salem-Molino,¹ Thais Roque,¹ Tainá Mosca,¹ Wangles Soler²

Abstract

Background: Hospital-acquired infection, often with *Staphylococcus aureus*, is an important complication in intestinal transplant.

Clinical case: A 2-year-old girl underwent small bowel transplantation owing to a small bowel volvulus. On the first postoperative day, lymphocyte phenotypes, serum immunoglobulins and chemotactic and phagocytic activity of neutrophils were assessed in peripheral blood. A decrease in the ingestion phase of phagocytosis by neutrophils was identified, in comparison with the results of 20 healthy children. On the second day, the patient had low fever and, on the third, abdominal pain. In view of this, she underwent a laparotomy that revealed purulent ascites due to *Staphylococcus aureus*. Specific treatment resulted in rapid regression of the infectious condition and good evolution of the patient.

Conclusions: A decrease in the ingestion stage of phagocytosis by neutrophils preceded staphylococcal purulent ascites clinical manifestations, and immunologic assessment contributed to early diagnosis and treatment of the infection. We believe evaluation of neutrophilic activity is important in patients undergoing intestinal transplantation in order for possible hospital-acquired infections to be early diagnosed.

Keywords: Neutrophils; Nosocomial infection; *Staphylococcus aureus*; Intestinal transplant

Este artículo debe citarse como: Carvalho Neves-Forte W, Carvalho-Galvan AO, Salem-Molino P, Roque T, Mosca T, Soler W. Alteración laboratorial que precede a las manifestaciones clínicas de infección estafilocócica postrasplante intestinal. Rev Alerg Mex. 2017;64(3):381-385

¹Santa Casa de San Pablo, Facultad de Ciencias Médicas, Departamento de Ciencias Patológicas, Disciplina de Inmunología. San Pablo, Brasil

²Hermanidad de la Santa Casa de la Misericordia de San Pablo, Grupo de Trasplante. San Pablo, Brasil

Correspondencia: Wilma Carvalho Neves-Forte. wilmanevesforte@yahoo.com.br

Recibido: 2017-03-03
Aceptado: 2017-06-14

Resumen

Antecedentes: La infección hospitalaria, frecuentemente por *Staphylococcus aureus*, es una complicación importante en los pacientes con trasplante intestinal.

Caso clínico: Niña de 2 años de edad sometida a trasplante de intestino delgado debido a vólvulo yeyunal. En el primer día del posoperatorio, en la sangre periférica fueron evaluados fenotipo de linfocitos, inmunoglobulinas séricas, actividad quimiotáctica y fagocitaria de neutrófilos. Se identificó disminución de la etapa de ingestión de fagocitosis neutrofilica, en comparación con los resultados de 20 niños saludables. En el segundo día, la paciente presentó fiebre baja y en el tercero, dolor abdominal. Debido a lo anterior fue sometida a laparotomía que reveló ascitis purulenta por *Staphylococcus aureus*. El tratamiento específico derivó en regresión rápida del cuadro infeccioso y buena evolución.

Conclusiones: La disminución de la etapa de ingestión de la fagocitosis neutrofilica precedió a las manifestaciones clínicas de ascitis purulenta estafilocócica; la evaluación inmunológica contribuyó al diagnóstico y tratamiento precoces de la infección. Creemos que es importante la evaluación de la actividad neutrofilica en pacientes sometidos a trasplante intestinal, con la finalidad de diagnosticar tempranamente posibles infecciones hospitalarias.

Palabras clave: Neutrófilos; Infección nosocomial; *Staphylococcus aureus*; Trasplante intestinal

Abreviaturas y siglas

IL-2, interleucina 2

LFA-1, antígeno-1 asociado a la función leucocitaria

LPS, lipopolisacárido bacteriano

NBT, nitroblue tetrazolium

TNF α , factor de necrosis tumoral alfa

Introducción

El trasplante intestinal es la única posibilidad de cura para los pacientes con falencia intestinal que desarrollan complicaciones relacionadas con la nutrición parenteral. Si bien las técnicas quirúrgicas cada día se perfeccionan, la incompatibilidad HLA y las infecciones postrasplante continúan siendo los principales obstáculos. Todos los esfuerzos orientados a disminuir las complicaciones posquirúrgicas pueden beneficiar a las cirugías de trasplante.

Hay varios intentos de reducir el rechazo: continuamente se desarrollan fármacos inmunosupresores y se amplían las medidas preventivas, como las encaminadas a evitar la infección por citomegalovirus y la realización de exámenes pre y posquirúrgicos, conductas que han mejorado la supervivencia de los pacientes.

En cuanto a los procesos infecciosos, la infección nosocomial continúa siendo una complicación importante en pacientes hospitalizados y una de las

principales causas de mortalidad en trasplante intestinal. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella spp* y *Proteus spp* son las bacterias más frecuentes en infecciones postrasplante. La translocación de bacterias del trato gastrointestinal puede ser responsable de algunas de esas infecciones.

Estudios de pacientes con trasplantes de intestino delgado mostraron alta frecuencia de infección hospitalaria (las más comunes fueron en abdomen, seguidas de sangre, orina, pulmón y herida quirúrgica)¹ y revelaron los patógenos resistentes: 100 % de cepas de *Staphylococcus aureus* eran resistentes a meticilina; 36 % de las *Pseudomonas aeruginosa*, a varias drogas; 75 % de *Enterococcus faecium* a vancomicina y 31 % de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* eran productoras de betalactamasas. La resistencia de los patógenos agrava la infección hospitalaria en el paciente con trasplante intestinal.

La búsqueda de los factores que propician estas infecciones, como los estudios sobre posibles alteraciones de la respuesta inmunológica son relevantes si consideramos la frecuencia e impacto de las infecciones hospitalarias en los receptores de trasplante intestinal.

Caso clínico

Niña caucásica de 2 años de edad y peso de 13 kg, quien recibió trasplante intestinal debido a resección de vólvulo yeyunal. Se efectuó trasplante de intestino delgado separado, manteniendo 6 cm del yeyuno proximal. La paciente fue sometida a inmunosupresión con tacrolimus, basiliximab y metilprednisolona.

En el primer día del posoperatorio, sin que la paciente presentase señal o síntoma de infección, desde la colecta de sangre periférica fueron realizados exámenes *in vitro* para evaluar la respuesta inmunológica: fenotipo de linfocitos, inmunoglobulinas séricas, actividad quimiotáctica y respuesta fagocitaria (ingestión y digestión) de los neutrófilos polimorfonucleares (Cuadro 1).

Los exámenes para linfocitos e inmunoglobulinas fueron realizados por técnicas convencionales. Los resultados de IgG, IgM, IgA y de linfocitos CD3, CD4, CD8 y CD19 se presentaron dentro de los parámetros de referencia para cada grupo de edad (Cuadro 2).^{2,3}

La evaluación de la función de neutrófilos fue comparada con los resultados de 20 niñas eutróficas, saludables, no trasplantadas y del mismo grupo de edad, analizadas previo consentimiento informado.⁴

Después de la separación de los neutrófilos por sedimentación espontánea⁵ fueron utilizadas cámaras de Boyden y tubos de Leighton para evaluar la actividad quimiotáctica y de la etapa de ingestión de la fagocitosis por neutrófilos.^{4,5} Tanto los exámenes de la paciente como los del grupo de control fueron realizados por duplicado.

Para quimiotaxia fueron realizados 3 ensayos: neutrófilos incubados con 75 mμ/mL de lipopolisacárido bacteriano (LPS), neutrófilos incubados con LPS y suero de pacientes saludables (suero homólogo) y neutrófilos incubados con LPS y suero del propio paciente (suero autólogo). Después de incubación por 2 horas a 37 °C y 5 % de CO₂ fue determinada la distancia de migración de los 3 ensayos: 54, 72 y 74 μm. Para la etapa de ingestión de la fagocitosis fueron realizados ensayos análogos: neutrófilos, neutrófilos incubados con partículas de zymosan y suero homólogo; neutrófilos, zymosan y suero autólogo. Después de 60 minutos a 37 °C y 5 % de CO₂ fue determinado el número de neutrófilos que contenían 3 o más vacuolas fagocíticas, observándose 20, 47 y 50 %, entre un número fijo de 200 neutrófilos.^{4,5,6}

La etapa de digestión de la fagocitosis fue determinada por la prueba de nitroblue tetrazolium (NBT): 100 mL de sangre heparinizada fueron incubados sin LPS (NBT espontáneo) y con LPS (NBT estimulado). Después de 30 minutos a 37 °C y 5 % de CO₂ fue determinado el número de neutrófilos que redujeron NBT: 9 y 18 % entre un número fijo de 200 neutrófilos. Los resultados también fueron comparados con los de los 20 niños saludables estudiados.⁴

Cuadro 1. Quimiotaxia y fagocitosis de neutrófilos en niña de 2 años en el segundo día postrasplante intestinal, comparados con los resultados de 20 niños saludables entre 2 y 5 años de edad

	Actividad quimiotáctica (μm)	Ingestión de la fagocitosis (% entre 200 células)	Nitroblue tetrazolium (% entre 200 células)
Paciente	Control: 54	Control: 20	Espontáneo: 9 Estimulado con LPS: 18
	SH: 72	Zy y SH: 47*	
	SA: 74	Zy y SA: 50*	
Grupo control	Control: 36	Control: 24	Espontáneo: 12 Estimulado con LPS: 17
	SH: 71	Zy y SH: 76*	
	SA: 74	Zy y SA: 70*	

*Valores con disminución significativa ($p < 0.05$).

SH, suero homólogo; SA, suero autólogo; Zy, zymosan; LPS, lipopolisacárido

Fue observada disminución significativa para la etapa de ingestión de la fagocitosis por neutrófilos de la paciente (Cuadro 1), sin diferencia significativa para los demás exámenes (Cuadros 1 y 2).

Durante el segundo día del operatorio, en la paciente se observó fiebre baja. Al tercer día presentó dolor abdominal y caída del estado general. Por lo anterior se realizó laparotomía que evidenció ascitis purulenta, con cultivo positivo para *Staphylococcus aureus*. Se inició tratamiento para infección estafilocócica, con regresión rápida del cuadro infeccioso y buena evolución de la paciente.

Discusión

La disminución de la actividad neutrofílica observada en la paciente antecedió a la manifestación clínica de infección estafilocócica y es muy probable que haya propiciado la infección. La etapa de ingestión no mostró diferencia entre el segundo y tercer ensayo, lo que indicó que la paciente presentaba un problema intrínseco de los neutrófilos; si la diferencia hubiese sido entre los 2 ensayos, el problema sería exterior a los neutrófilos, como falta de opsoninas plasmáticas.⁴

Los neutrófilos son las principales células de defensa contra microorganismos catalasa-positivos, como *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus fumigatus*.⁷ Pacientes con disminución de las funciones de neutrófilos presentan frecuentes infecciones estafilocócicas, en especial abscesos de repetición.

La niña no presentaba historia de consanguinidad o de infecciones de repetición o reacción adversa después de recibir BCG y presentó normalidad

del NBT en la evolución tardía, lo que excluyó enfermedad granulomatosa crónica.

La disminución de la actividad neutrofílica observada en la paciente puede ser consecuente al estrés quirúrgico y a la inmunosupresión necesaria. En cirugías mayores se describe disminución de la síntesis del factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), que disminuye la migración transendotelial de neutrófilos. En cirugías mayores aún se observa aumento de IL-10 plasmática, la cual inhibe la función de fagocitos.⁸

La metilprednisolona reduce la expresión de la molécula de adhesión LFA-1 (antígeno-1 asociado a la función leucocitaria) necesaria para la emigración transendotelial de leucocitos a través del endotelio.⁷ Los neutrófilos separados de la sangre periférica de adultos que reciben metilprednisolona endovenosa por 5 días presentan *in vitro* reducción de la etapa de ingestión de *Exserohilum rostratum*, lo que propicia meningitis,⁹ semejante a lo observado en el presente estudio. Durante la corticoterapia se registra aspergilosis pulmonar invasiva, que también depende de la perfecta función neutrofílica.

El tacrolimus y la ciclosporina son inhibidores de la calcineurina, que apoca la síntesis de la interleucina 2 (IL-2), necesaria para la proliferación y activación de linfocitos, en especial de los linfocitos T. El anticuerpo monoclonal basiliximab se une al receptor de la IL-2, impidiendo aún más la acción de esa citocina. Los linfocitos T auxiliares tipo 1 (Th1) son sintetizadores de interferón gamma ($IFN\gamma$), que aumenta la fagocitosis tanto de neutrófilos como de fagocitos mononucleares. Varios otros inmunosupre-

Cuadro 2. Fenotipos de linfocitos e inmunoglobulinas séricas de niña de 2 años en el segundo día postrasplante intestinal, comparados con las curvas de referencia de niños saludables de la misma edad^{6,9}

	Fenotipo de linfocitos (células/mm ³)	IgG, IgM e IgA séricas (mg/dL)
Paciente	CD3+, 1756	IgG, 885
	CD19+, 509	IgM, 17
	CD4+, 1018	IgA, 141
	CD8+, 814	
Curva de normalidad	CD3+, 1498-3816	IgG, 610-1610
	CD19+, 328-1079	IgM, 29-195
	CD4+, 786-2085	IgA, 40-289
	CD8+, 452-1700	

Valores sin diferencias significativas

sores actúan de forma análoga, además de enmascarar las manifestaciones clínicas de la infección.

Tanto la cirugía mayor como los inmunosupresores utilizados pudieron alterar la función neutrofílica en la paciente que se describe en este informe.^{8,9,10} El trastorno neutrofílico propició mayor susceptibilidad de la paciente a la infección hospitalaria por *Staphylococcus aureus*, una vez que la defensa contra tal patógeno necesitó la perfecta actividad de fagocitos neutrofílicos.⁷

Conclusiones

La disminución de la etapa de ingestión de la fagocitosis por neutrófilos precedió la manifestación clínica de la ascitis purulenta por *Staphylococcus aureus* y la evaluación inmunológica auxilió en el diagnóstico precoz de la ascitis purulenta, contribuyendo con la buena evolución. Creemos que la evaluación de la actividad fagocitaria de neutrófilos de la sangre periférica puede ser útil en pacientes en condiciones semejantes.

Referencias

1. Primeggia J, Matsumoto CS, Fishbein TM, Karacki PS, Fredette TM, Timpone JG. Infection among adult small bowel and multivisceral transplant recipients in the 30-day postoperative period. *Transpl Infect Dis*. 2013;15(5):441-448. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/tid.12107>
2. Naspitz CK, Solé D, Carneiro-Sampaio MMS, Gonzalez CH. Níveis séricos de IgG, IgM, IgA em crianças brasileiras normais. *J Pediatr*. 1982;52(3):121-126.
3. De-Moraes-Pinto MI, Ono E, Santos-Valente EC, Almeida LC, De-Andrade PR, Saraiva-Dinelli MI, et al. Lymphocyte subsets in human immunodeficiency virus-unexposed Brazilian individuals from birth to adulthood. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109(8):989-998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-0276140182>
4. Forte WC, Guardian VC, Mantovani PA, Dionigi PC, Menezes MC. Evaluation of phagocytes in atopic dermatitis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2009;37(6):302-308. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2009.06.003>
5. Mosca T, Menezes MC, Silva AV, Stirbulov R, Forte WC. Chemotactic and phagocytic activity of blood neutrophils in allergic asthma. *Immunol Invest*. 2015;44(5):509-520. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/08820139.2015.1041606>
6. Menezes MC, Malafronte P, Souza JF, Sens YA, Forte WC. Evaluation of neutrophilic activity in patients submitted to kidney transplantation. *Ren Fail*. 2010;32(4):464-468. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/08860221003664272>
7. Neves-Forte WC. *Imunologia do básico ao aplicado*. Tercera edición. Brasil: Atheneu; 2015.
8. Angele MK, Faist E. Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Crit Care*. 2002;6(4):298-305. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/cc1514>
9. Simitopoulou M, Walsh TJ, Kyrpitzis D, Petraitis V, Kontoyiannis DP, Perlin DS, Roilides E. Methylprednisolone impairs conidial phagocytosis but does not attenuate hyphal damage by neutrophils against *Exserohilum rostratum*. *Med Mycol*. 2015;53:189-193. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myu034>
10. Simon D, Vassina E, Yousefi S, Kozlowski E, Braathen LR, Simon HU. Reduced dermal infiltration of cytokine-expressing inflammatory cells in atopic dermatitis after short-term topical tacrolimus treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(4):887-895. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2004.05.066>