

**EVOLUCIÓN CLÍNICA Y PRONÓSTICO DE LA ASCITIS NEUTROCÍTICA
CON CULTIVO NEGATIVO (ANCN) Y LA PERITONITIS BACTERIANA
ESPONTÁNEA (PBE)**

Departamento de Medicina / Universidad de Barcelona

Autor: Nuria Cañete Hidalgo

Directora: Isabel Cirera Lorenzo. Médico Adjunto de Hepatología del Servicio de Digestivo.

Parc de Salut MAR.

Co-Director: Ricard Solà Lamoglia. Jefe de Sección de Hepatología del Servicio de Digestivo.

Parc de Salut MAR.

Trabajo de investigación

Convocatoria: Septiembre de 2010

ÍNDICE

1.	RESUMEN	4
2.	INTRODUCCIÓN	5
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	7
4.	RESULTADOS	9
5.	DISCUSIÓN	14
6.	CONCLUSIONES	17
7.	BIBLIOGRAFÍA	18

RESUMEN

La infección del líquido ascítico incluye tanto la clásica peritonitis bacteriana espontánea (PBE), como la ascitis neutrocítica cultivo negativo (ANCN).

Objetivo: Analizar la incidencia, el curso clínico y el pronóstico de la PBE y de la ANCN en un grupo de pacientes tras presentar su primera descompensación ascítica.

Pacientes y métodos: Un total de 263 pacientes cirróticos consecutivos que presentaron la primera descompensación ascítica entre agosto de 1997 y diciembre de 2001 fueron seguidos de forma prospectiva. En todos los pacientes que presentaron síntomas de infección y/o deterioro clínico se realizó análisis del líquido ascítico.

Resultados: Cincuenta y ocho pacientes desarrollaron 83 episodios de infección del líquido ascítico. En 44 episodios el cultivo fue negativo (ACNC) y en 37 fue positivo (PBE). Al ingreso, los pacientes con ANCN presentaban una función hepática y renal mejor que los pacientes con PBE, con menor incidencia de encefalopatía, y menor puntuación de Child-Pugh y de MELD. El recuento de PMN en líquido ascítico fue menor en el grupo de ANCN que en el grupo de PBE. La infección del líquido ascítico se resolvió de forma más precoz en los pacientes con ANCN que en los que presentaban PBE. Los pacientes con ANCN presentaron una menor incidencia de insuficiencia renal inducida por la infección que los pacientes con PBE. Aunque la mortalidad fue similar en ambos grupos, se observó una tendencia a presentar una menor mortalidad acumulada al año en el grupo de pacientes con ANCN.

Conclusión: La ANCN acontece principalmente en cirróticos con una enfermedad hepática menos evolucionada, y parece tener un curso clínico y pronóstico mejor que la PBE aunque continúa presentando una elevada mortalidad.

INTRODUCCIÓN

Los pacientes con cirrosis hepática tienen una alta incidencia de infecciones bacterianas, especialmente aquellos con grados más avanzados de insuficiencia hepática, siendo la infección del líquido ascítico una de las más características (1).

La infección del líquido ascítico se diagnostica cuando el recuento de leucocitos polimorfonucleares del líquido ascítico es superior a 250 células/mL en ausencia de foco infeccioso intraabdominal (absceso o perforación), e incluye tanto la peritonitis bacteriana espontánea (PBE), definida cuando el cultivo es positivo monomicrobiano, como la ascitis neutrocítica cultivo negativo (ANCN) (2).

Inicialmente, la ANCN fue considerada una variante de infección del líquido ascítico consecuencia en gran medida de la utilización de métodos de cultivo subóptimos, incapaces de detectar el bajo número de inóculos bacterianos presentes en el líquido ascítico (3). No obstante, tras la notable mejoría de la sensibilidad de los métodos de cultivo, especialmente tras la implementación de la inoculación inmediata de líquido ascítico en botes de hemocultivo, se ha podido comprobar que aún persisten un número significativo de ANCN (alrededor del 30-40%) (4).

El significado y el pronóstico de la ANCN ha sido un punto de controversia en la década de los noventa. En el estudio de Runyon y cols (3) que incluía 33 episodios de PBE y 18 de ANCN, las características clínicas de ambos grupos fueron similares, y si bien la tasa de mortalidad fue más elevada en el grupo de pacientes con PBE que en el grupo de ANCN, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Terg y cols (5), en un estudio posterior con similar número de pacientes, tampoco encontraron diferencias clínicas o analíticas entre ambos grupos de pacientes, y confirmaron los resultados de Runyon y cols, por lo que postularon que ambas entidades eran variantes de una misma enfermedad. Sin embargo, Pelletier y cols (6) incluyendo un mismo número de episodios encontraron que la tasa de mortalidad de los pacientes con PBE era significativamente mayor que la mortalidad de los pacientes con ANCN. Los autores concluyeron que la ANCN parecía corresponder a una variante menos grave de PBE, donde los mecanismos defensivos del huésped habrían conseguido eliminar las bacterias viables en el líquido ascítico, a pesar de persistir la respuesta inflamatoria del líquido ascítico medida por el recuento de leucocitos polimorfonucleares.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, nos planteamos realizar un estudio prospectivo cuyo objetivo ha sido comparar el curso clínico y el pronóstico de los pacientes con PBE y ANCN tras su primer episodio de descompensación ascítica.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el período comprendido desde Agosto de 1997 a Diciembre de 2001, todos los pacientes con cirrosis hepática que presentaron su primera descompensación ascítica, e ingresaron en dos Hospitales Universitarios de Barcelona, fueron incluidos en un estudio prospectivo cuyo objetivo fue investigar la probabilidad de desarrollar una infección del líquido ascítico desde el momento de la descompensación. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité Ético de ambos hospitales.

Los pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión: 1) diagnóstico de cirrosis hepática por criterios histológicos y/o por criterios analíticos y ecográficos; 2) semiología de ascitis grado 2-3; 3) edad comprendida entre 18 y 80 años y 4) seguimiento prospectivo mínimo de 6 meses en el mismo hospital.

Fueron excluidos los pacientes con 1) etiología de la cirrosis diferente a infección crónica por virus de la hepatitis C y/o alcohol, 2) infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y 3) diagnóstico concomitante de carcinoma hepatocelular.

Se consideró final del seguimiento la fecha de fallecimiento del paciente, la fecha en que fue sometido a trasplante hepático o la fecha de cierre del estudio en Diciembre de 2002.

De forma rutinaria, a todos los pacientes se les realizó un análisis del líquido ascítico en el momento del ingreso. Así mismo, si durante su estancia desarrollaban síntomas de infección, deterioro del estado clínico o aparición de insuficiencia renal, se realizaba nueva paracentesis con cultivos de sangre y orina, y radiografía de tórax.

La paracentesis se realizó en condiciones de asepsia según técnica habitual. El análisis del líquido ascítico incluyó recuento celular total y diferencial, concentración de proteínas y cultivo mediante inoculación de 10 mL de líquido ascítico en frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio (BACTEC) según procedimiento habitual (24).

El diagnóstico de ANCN se realizó en aquellos pacientes que cumplían los siguientes criterios: 1) recuento de PMN en líquido ascítico $> 250/\text{mL}$, 2) cultivo negativo del líquido ascítico, 3) ausencia de foco infeccioso intraabdominal, y 4) ausencia de tratamiento antibiótico previo, exceptuando la descontaminación intestinal selectiva con norfloxacina.

Para el diagnóstico de PBE, además de los criterios anteriores, debía existir un cultivo de líquido ascítico positivo.

La disfunción renal inicial se estableció como el incremento de más del 50% de BUN o creatinina en aquellos pacientes con insuficiencia renal previa; o niveles de BUN mayores de 30 mg/dL o creatinina mayor de 1,5 mg/dL en aquellos pacientes con función renal previamente normal.

Los pacientes con infección de líquido ascítico incluidos a partir de enero de 2000, fueron expandidos con seroalbúmina endovenosa en el momento del diagnóstico de la infección y al tercer día, para prevenir la insuficiencia renal funcional asociada a la infección (25).

Análisis estadístico

Las variables continuas están expresadas como media \pm desviación estándar. Las variables categóricas se presentan en números (porcentajes). El test de *t* de Student se utilizó para comparar las variables cuantitativas, y el test de Chi-cuadrado para comparar las variables cualitativas. La supervivencia se calculó desde la fecha del episodio de infección del líquido ascítico hasta la muerte del paciente. El análisis univariado de la supervivencia se realizó usando el método de Kaplan-Meier. Las curvas fueron comparadas con el log rank test. Los factores predictivos independientes de supervivencia se identificaron a partir de las variables que alcanzaron $p < 0.1$ que fueron incluidas con valores continuos en un análisis multivariado usando el procedimiento de regresión de Cox. El análisis de todos los datos se ha realizado con el programa Statview 5.0 (SAS Institute Inc, NC) y JMP 5.0 1 software estadístico para Mac OS 9 y X (Apple Computer Inc., Cupertino, CA), respectivamente.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 263 pacientes cirróticos que tuvieron un seguimiento medio de 41 ± 3 meses. Cincuenta y ocho pacientes desarrollaron un total de 83 episodios de infección del líquido ascítico. La probabilidad de presentar infección tras la primera descompensación ascítica fue del 8% en el primer año y del 16.9 % a los 3 años. De todos los episodios, 39 (47%) correspondían a episodios de PBE y 44 (53%) correspondían a ANCN. Por orden de frecuencia, los microorganismos aislados en los pacientes con PBE fueron E Coli en 25 casos (64.1%), Streptococcus en 10 casos (25.6%) y Enterococcus, Staphylococcus, Klebsiella y Morganella en 1 caso cada uno (2.6%). El tratamiento antibiótico más frecuentemente administrado fue amoxicilina-ácido clavulánico en 30 (36.1%) episodios seguido por cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y ceftriaxona) en 23 (27.7%) y 16 (19.3%) episodios, respectivamente. La resolución de la infección del líquido ascítico fue del 60-100% según el antibiótico administrado, requiriendo cambio de tratamiento en un 12.5-33% de los casos (tabla 1).

	n (%)	Resolución (n,%)	Cambio ABT (n,%)
Amoxicilina-ác. Clavulánico	30 (36,1)	18 (60)	10 (33,3)
Cefotaxima	23 (27,7)	15 (65,2)	6(26)
Ceftriaxona	16 (19,3)	12 (75)	2 (12,5)
Ciprofloxacino	8 (9,6)	6 (75)	1 (12,5)
Imipenem	4 (4,8)	4 (100)	0
Otros	2 (2,1)	2 (100)	0

Tabla 1. Tratamiento antibiótico administrado y evolución

Tal y como muestra la figura 1, la probabilidad de desarrollar infección del líquido ascítico tras el primer episodio de ascitis fue del 8% al primer año, del 16,9% al tercer año y del 23,3% al quinto año. Con el fin de poder identificar los factores predictivos de infección del líquido ascítico, se realizó un análisis univariado de las variables recogidas en los diferentes episodios. Las variables que mostraron valor predictivo fueron la etiología por VHC de la cirrosis ($p=0,000$), una edad superior a 62 años ($p=0,000$), un recuento de plaquetas inferior a 95.000/mL ($p=0,09$) y una concentración de proteínas en el líquido ascítico inferior a 10 g/L ($p=0,07$). Sin embargo, en el análisis multivariado la única variable con valor predictivo independiente para el desarrollo de infección del líquido ascítico fue tener una concentración de proteínas en el líquido ascítico inferior a 10 g/L (OR 2,25; IC 95%: 1,15-4,65; $p=0,03$; modelo de Cox).

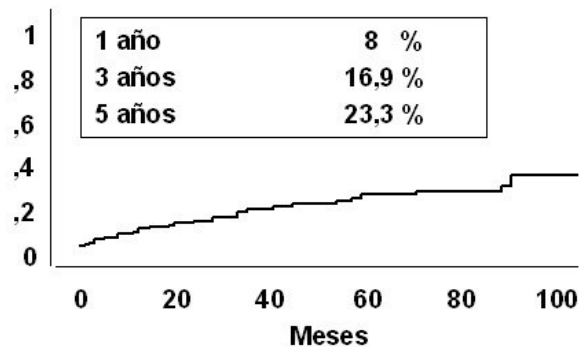


Figura 1. Probabilidad actuarial de infección del líquido ascítico desde la primera ascitis

La Tabla 2 resume las características clínicas y analíticas de ambos grupos de pacientes. Los pacientes con PBE presentaban una función hepatocelular más deteriorada, tal como se refleja por un valor de albúmina plasmática menor ($29\pm 0,9$ vs $33\pm 0,9$; $p=0,02$), y un tiempo de protrombina inferior (49 ± 3 vs 62 ± 3 ; $p=0,001$) que los pacientes con ANCN.

En el momento del diagnóstico de la infección del líquido ascítico, la presencia de insuficiencia renal funcional asociada a la infección fue similar en ambos grupos, si bien se observó que los

pacientes con PBE presentaban un valor de creatinina más elevado que los pacientes con ANCN ($1,5 \pm 0,1$ vs $1,2 \pm 0,1$; $p=0,05$).

Por lo tanto, los pacientes con PBE presentaban un mayor índice de Child-Pugh ($10,1 \pm 0,3$ vs $8,9 \pm 0,3$; $p=0,01$) y de MELD ($18,9 \pm 1,2$ vs $13,3 \pm 1,1$; $p=0,0008$) que los pacientes con ANCN.

En relación a las características del líquido ascítico, también se observaron diferencias importantes. El grupo de pacientes con PBE presentaba una mayor respuesta inflamatoria con mayor número de PMN (5513 ± 1117 vs 1256 ± 252 ; $p=0,0002$) y también una menor concentración de proteínas ($0,9 \pm 0,08$ vs $1,2 \pm 0,12$; $p=0,09$) que los pacientes con ANCN.

	PBE	ANCN	P
Pacientes	<u>39</u>	44	
Bilirrubina (mg/dL)	$5,1 \pm 0,7$	$3,8 \pm 0,8$	NS
Albúmina (g/L)	$29 \pm 0,9$	$33 \pm 0,9$	0,02
Protrombina (%)	49 ± 3	62 ± 3	0,001
BUN (mg/dL)	36 ± 4	28 ± 3	0,1
Creatinina (mg/dL)	$1,5 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	0,05
Pugh score	$10,1 \pm 0,3$	$8,9 \pm 0,3$	0,01
MELD score	$18,9 \pm 1,2$	$13,3 \pm 1,1$	0,0008
Encefalopatía (n,%)	18 (46,2)	8 (18,2)	0,05
I renal-inicial (n,%)	13 (33,3)	10 (22,7)	NS
PMN ascitis (mm3)	5513 ± 1117	1256 ± 252	0,0002
Proteínas ascitis (g/L)	$0,9 \pm 0,08$	$1,2 \pm 0,12$	0,09

Tabla 2. Datos clínicos y parámetros analíticos de sangre y líquido ascítico de los pacientes con PBE y ANCN

La evolución clínica de los pacientes con PBE fue claramente diferente de la evolución de los pacientes con ANCN. Los pacientes con PBE desarrollaron con mayor frecuencia insuficiencia renal asociada a la infección (38,5% vs 18%, $p = 0,04$), presentaron una mayor incidencia de shock séptico (15,4% vs 4,6%; $p = 0,09$), y tardaron más tiempo en resolver la infección del líquido ascítico (6,7 vs 4,2 días; $p = 0,01$) que los pacientes con ANCN.

La mortalidad entre ambos grupos de pacientes mostró una tendencia a ser diferente aunque sin llegar a alcanzar la significación estadística. La mortalidad al año de los pacientes con PBE fue del 54,5% frente al 34,8% de mortalidad en el grupo de pacientes con ANCN ($p = 0,09$).

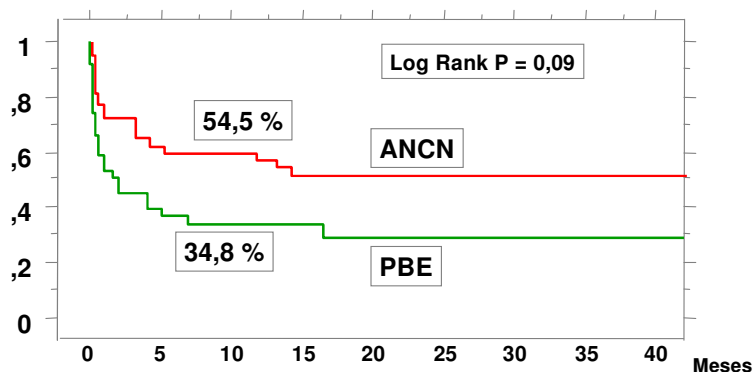


Figura 2. Probabilidad actuarial de supervivencia tras un episodio de PBE y ANCN

Los factores predictivos de supervivencia fueron parámetros relacionados con el funcionalismo renal como la creatinina sérica y el BUN en el momento del diagnóstico de la infección ($p=0,000$ y $p=0,005$, respectivamente) y el desarrollo de insuficiencia renal inducido por la infección ($p=0,000$), siendo esta última el único factor predictivo independiente de supervivencia (OR 6,974; IC 95%: 2,6-18,4; $p = 0,000$; modelo de Cox).

A partir del trabajo de Sort y cols todos los pacientes con infección del líquido ascítico fueron expandidos con seroalbúmina para reducir la incidencia de insuficiencia renal y la mortalidad del episodio. Un total de 22 episodios de PBE y 26 de ANCN fueron expandidos con seroalbúmina. El pequeño tamaño de la muestra no permite analizar si la administración de

albúmina dentro de cada grupo de pacientes tuvo algún efecto beneficioso. Se realizó un análisis incluyendo pacientes con PBE y ANCN que habían recibido albúmina frente al grupo de pacientes con PBE y ANCN que no la recibieron.

Globalmente, la expansión con seroalbúmina no influyó en la aparición de insuficiencia renal inducida por la infección, la mortalidad hospitalaria ni la probabilidad de supervivencia al año. Sin embargo, la incidencia de insuficiencia renal inducida por la infección (14,3 vs 55,6%; $p=0,04$) y la mortalidad hospitalaria (21,4 vs 66,7%; $p=0,03$) fueron significativamente inferiores, y la probabilidad de supervivencia al año (21,4 vs 0%; $p=0,004$) fue significativamente más elevada en el subgrupo de pacientes con insuficiencia renal en el momento del diagnóstico de la infección del líquido ascítico (creatinina $>1,5$ mg/dL; media $2,3\pm 0,25$; rango: 1,5-4,5) que recibieron albúmina que en aquellos episodios que no la recibieron.

DISCUSIÓN

La hipótesis más aceptada para explicar la patogenia de la infección del líquido ascítico es la colonización del mismo por gérmenes de origen intestinal a partir de un episodio de bacteriemia. Desde la luz intestinal, las bacterias cruzan las barrera epitelial de la mucosa y colonizan los ganglios linfáticos mesentéricos, proceso conocido como translocación bacteriana (TB). Desde allí a través de la vía linfática alcanzan la circulación sanguínea y el líquido ascítico (7).

Se estima que la TB se presenta en el 30% de los pacientes cirróticos con mala función hepatocelular según los estudios clínicos (8) y hasta en un 60% de las ratas cirróticas con ascitis (9,10). Para que la TB sea clínicamente relevante, deben existir alteraciones en las defensas locales o sistémicas del huésped. En pacientes inmunocompetentes, las bacterias que translocan a ganglios mesentéricos o al territorio portal son habitualmente neutralizadas antes de que ocasionen patología. Por el contrario, en los pacientes cirróticos se dan una serie de alteraciones inmunológicas que favorecen el desarrollo de bacteriemias y episodios de infección del líquido ascítico. Entre estas alteraciones, se encuentran una menor capacidad bactericida de los macrófagos (11,12), la disminución de la capacidad bactericida humoral del suero y del líquido ascítico (13,14) y la disminución de la capacidad del sistema retículo endotelial (SER) representado por las células de Kupffer (15). Esta incapacidad de aclaramiento del SER no solamente influye en la eliminación de bacterias viables, sino también en el aclaramiento de productos de origen bacteriano como la endotoxina (16) o el ADN bacteriano (17,18).

Estudios previos han sugerido que ANCN es una variante de la PBE, si bien ninguno de ellos había conseguido demostrar que existieran diferencias clínicas o analíticas entre ambos grupos de pacientes, muy probablemente por el limitado número de pacientes incluidos. En nuestro estudio, se ha podido demostrar diferencias clínicas y analítica evidentes entre ambas entidades. Los paciente que desarrollan una PBE son pacientes que presentan una función hepatocelular más deteriorada tal como indica una mayor puntuación de Child-Pugh, la presencia de encefalopatía hepática en el momento del diagnóstico de la infección, y una concentración baja de proteínas en el líquido ascítico. Por el contrario, la ANCN se presenta en pacientes con una función hepatocelular más conservada, y su curso clínico y pronóstico son

mejores que en los pacientes con una PBE. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otros estudios clínicos de translocación bacteriana, ya que uno de los factores predictivos independientes de presentar infección del líquido ascítico en estos estudios, es tener una concentración de proteínas inferior a 10 gr/dL en el líquido ascítico. Este dato está en relación con la capacidad de opsonización a nivel del líquido ascítico y, por lo tanto, de capacidad para eliminar tanto las bacterias o los productos bacterianos que logren alcanzar a través del fenómeno de translocación bacteriana el líquido ascítico. Así pues, aquellos pacientes con menor concentración de proteínas suelen ser los que presentan una mayor insuficiencia hepatocelular.

Teniendo en cuenta los resultados de nuestro estudio de PBE y ANCN, donde esta última se da preferentemente en paciente con función hepática mejor conservada, cabe pensar que la TB constituye un mecanismo clave en el desarrollo de una enfermedad con diferentes espectros clínicos, donde la posibilidad final de desarrollar la infección va a depender en gran parte del grado de insuficiencia hepatocelular del paciente y de su capacidad de neutralizar y eliminar la bacteria viable o sus derivados. De hecho, en estudios realizados recientemente se ha demostrado que los pacientes en los que se detecta ADN bacteriano en suero y/o ascitis presentan una respuesta humoral e inmune similar a la que presentan los pacientes cirróticos con infección del líquido ascítico (20-22), y además presentan una mortalidad mayor que los pacientes en los que no se detecta ADN bacteriano (21).

Es por todo lo anterior, que sería útil en próximos estudios poder determinar cuál es la diferencia entre los pacientes con cirrosis hepática y ascitis que presentan ADN bacteriano sin criterios de infección del líquido ascítico respecto a aquéllos con ANCN; determinar los factores predictivos para la presencia de productos bacterianos tanto a nivel de plasma como de líquido ascítico y valorar la posibilidad de realizar descontaminación intestinal selectiva de forma más precoz para evitar el inicio de la respuesta inflamatoria humoral y celular que conlleva la presencia de productos bacterianos en el torrente circulatorio y/o en el líquido ascítico.

Si bien el curso clínico es menos severo que en la PBE, la ANCN continúa siendo una infección grave en el paciente cirrótico, con una tasa elevada de complicaciones clínicas y de mortalidad tanto durante el episodio como en la evolución posterior. En coincidencia con otros estudios (25), la presencia de insuficiencia renal en el momento del diagnóstico de la infección, o el

deterioro de la función renal durante el episodio en el paciente con cirrosis hepática y PBE o ANCN condicionan de forma muy importante el pronóstico, aumentando la tasa de morbimortalidad. De hecho, si no existe contraindicación para ello, todos los pacientes que consiguen superar un episodio de PBE o de ANCN deberían ser evaluados para trasplante hepático.

Finalmente, en nuestro estudio hemos confirmado que la administración de seroalbúmina reduce la incidencia de insuficiencia renal inducida por la infección y la mortalidad en pacientes cirróticos con PBE o ANCN que presentan disfunción renal en el momento del diagnóstico de la infección. Por el contrario, no parece ser necesaria en pacientes con función renal normal en el momento del diagnóstico.

CONCLUSIONES

1. Una concentración de proteínas en líquido ascítico inferior a 10 g/L es el único factor predictivo de aparición de infección del mismo.
2. La PBE se presenta en pacientes con mayor insuficiencia hepatocelular (Child-Pugh) y mayor deterioro de la función renal (índice de MELD)
3. La ANCN parece tener un curso clínico y un pronóstico menos severo que la PBE, y acontece en pacientes con función hepatocelular más conservada.
4. La presencia de insuficiencia renal en el paciente cirrótico con PBE o ANCN empeora la evolución y el pronóstico del episodio.
5. La administración de seroalbúmina mejora el pronóstico de los pacientes con PBE y ANCN que presentan insuficiencia renal en el momento del diagnóstico de la infección
6. Los pacientes que sobreviven a un episodio de PBE o ANCN deben ser evaluados para trasplante hepático

BIBLIOGRAFIA

1. Navasa M, Rodés J. Bacterial infections in cirrhosis. *Liver Int* 2004;277-280.
2. Conn HO. Ascitic fluid: a leap forward (or a step). *Hepatology* 1982;2:507-510.
3. Runyon BA and Hoefs JC. Culture-negative neutrocytic ascites: a variant of spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1984;4:1209-1211.
4. Runyon BA, Umland ET, Merlín T. Inoculation of blood culture bottles with ascitic fluid improved detection of spontaneous bacterial peritonitis. *Arch Intern Med* 1987;147:73-75.
5. Terg R, Levi D, López P, Rafaelli C, Rojter S, Abecasis R, Villamil F, Aziz H, Podesta A. Analysis of clinical course and prognosis of culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and neutrocytic ascites. *Dig Dis Sci* 1992;37:1499-1504.
6. Pelletier G, Salmon D, Ink O, Hannoun S, Attali P, Buffet C, Etienne JP. Culture-negative neutrocytic ascites: a less severe variant of spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 1990;10:327-331.
7. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect Immun* 1979;23:403-411.
8. Cirera I, Bauer TM, Navasa M, Vila J, Grande L, Taurà P, Fuster J, García-Valdecasas JC, Lacy A, Suárez MJ, Rimola A, Rodés J. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2001;34:32-37
9. Llovet JM, Bartolí R, Planas R, Cabré E, Jiménez M, Urban A, Ojanguren I, Arnal J, Gassull MA. Bacterial translocation in cirrhotic rats. Its role in the development of spontaneous bacterial peritonitis. *Gut* 1994;35:1648-1652.
10. Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheik MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *J Hepatol* 1997;26:1372-1378.
11. García González M, Boixeda D, Herrero D, Burgaleta C. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on leukocyte function in cirrhosis. *Gastroenterology* 1993;105:527-531.
12. Gómez F, Ruiz P, Schreiber AD. Impaired function of macrophage Fcγ receptor and bacterial infection in alcoholic cirrhosis. *N Engl J Med* 1994;331:1122-1128.
13. Such J, Guarner C, Enríquez J, Rodríguez JL, Serés I, Vilardell F. Low C3 in cirrhotic ascites predisposes to spontaneous peritonitis. *Hepatology* 1988;6:80-84.
14. Runyon BA. Patients with deficient ascitic opsonic activity are predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1988;8:632-635.
15. Rimola A, Soto R, Bory F, Arroyo V, Píera C, Rodés J. Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infections and prognosis. *Hepatology* 1984;4:53-58.
16. Albillos A, De la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, Ruiz del Arbol L, Alvarez Mon M. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology* 2003; 37:208-217.

17. Such J, Francés R, Muñoz C, Zapater P, Casellas JA, Cifuentes A, Rodríguez-Varela F, Pascual S, Solá-Vera J, Carnicer F, Uceda F, Palazón JM, Pérez-Matero M. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. *Hepatology* 2002;36:135-141.
18. Francés R, Benlloch S, Zapater P, González JM, Lozano B, Muñoz C, Pascual S, Casellas JA, Uceda F, Palazón JM, Carnicer F, Pérez-Mateo M, Such J. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. *Hepatology* 2004;39:484-491.
19. Frances R, Muñoz C, Zapater P, Uceda F, Gascón I, Pascual S, Pérez Mateo M, Such J. Bacterial DNA activates cell mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. *Gut* 2004;53:860-864.
20. González Navajas JM, Bellot P, Francés R, Zapater P, Muñoz C, García-Pagán JC, Pascual S, Pérez-Matero M, Bosch J, Such J. Presence of bacterial-DNA in cirrhosis identifies a subgroup of patients with marked inflammatory response not related to endotoxin. *J Hepatol* 2008;48:61-67.
21. Zapater P, Francés R, González-Navajas JM, de la Hoz MA, Moreu R, Pascual S, Monfort D, Montoliu S, Vila C, Escudero A, Torras X, Cirera I, Llanos L, Guarner-Argente C, Palazón JM, Bellot P, Guarner C, Planas R, Solá R, Serra MA, Muñoz C, Pérez-Matero M, Such J. Serum and ascitic fluid bacterial DNA: a new independent prognostic factor in noninfected patients with cirrhosis. *Hepatology* 2008;48:1924-1931.
22. Francés R, Zapater P, González-Navajas JM, Muñoz C, Caño R, Moreu R, Pascual S, Bellot P, Pérez-Mateo M, Such J. Bacterial DNA in patients with cirrhosis and noninfected ascites mimics the soluble immune response established in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 2008;47:978-985.
23. Fernández J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, Vila C, Pardo A, Quintero E, Vargas V, Such J, Ginés P, Arroyo V. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology* 2007;133:818-824.
24. Runyon BA, Antillon MR, Akriviadis EA, McHutchinson JG. Bedside inoculation of blood culture bottles with ascitic fluid is superior to delayed inoculation in the detection of spontaneous bacterial peritonitis. *J Clin Microb* 1990; 28(12):2811-2.
25. Sort P, Navasa M, Arroyo V, Aldeguer X, Planas R, Ruiz-del-Arbol L, Castells L, Vargas V, Soriano G, Guevara M, Ginès P, Rodés J. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999; 5;341(6):403-9.