Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

34.

Diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares

2 0 0 9

Coordinadora: Mercedes Marín

Autores: Jaime Esteban
Mercedes Marín
María Antonia Meseguer
Mar Sánchez Somolinos

ISBN-978-84-613-5005-6

ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1. Introducción
2. Artritis séptica
2.1. Introducción
2.2. Definiciones y clasificación
2.3. Prevalencia
2.4. Manifestaciones clínicas
2.5. Etiopatogenia
2.6. Diagnóstico no microbiológico
2.7. Diagnóstico microbiológico
3. Osteomielitis
3.1. Introducción
3.2. Clasificación
3.3. Prevalencia
3.4. Etiología
3.5. Manifestaciones clínicas
3.6. Diagnóstico no microbiológico
3.7. Diagnóstico microbiológico
4. Infecciones asociadas con implantes
4.1. Infección relacionada con prótesis articulares
4.1.1. Introducción
4.1.2. Clasificación y manifestaciones clínicas
4.1.3. Prevalencia
4.1.4. Etiopatogenia
4.1.5. Diagnóstico no microbiológico
4.1.6. Diagnóstico microbiológico
4.2. Infección asociada con material de osteosíntesis
4.2.1. Introducción
4.2.2. Epidemiología y etiología
4.2.3. Patogenia
4.2.4. Manifestaciones clínicas
4.2.5. Diagnóstico microbiológico
5. Otros métodos para el diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares
5.1. Técnicas de biología molecular
6. Procesamiento microbiológico de muestras
6.1. Obtención
6.2. Transporte y conservación
6.3. Recepción en el laboratorio
6.4. Procesamiento
6.5. Medios de cultivo y condiciones de incubación
6.6. Precauciones e interpretación de resultados
6.7. Información de resultados
6.8. Observaciones y procedimientos no aceptables
7. Bibliografía

ÍNDICE DE LOS DOCUMENTOS TÉCNICOS

1. PNT-IOA-01. Procesamiento microbiológico del líquido articular
2. PNT-IOA-02. Procesamiento microbiológico de muestras de biopsias óseas y periimplantes
3. PNT-IOA-03. Procesamiento microbiológico de colecciones y abscesos
4. PNT-IOA-04. Procesamiento de implantes ortopédicos mediante sonicación

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

34. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES OSTEOARTICULARES. 2009

Coordinadora: Mercedes Marín

Autores: Jaime Esteban
Mercedes Marín
María Antonia Meseguer
Mar Sánchez Somolinos

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones osteoarticulares (osteomielitis, artritis e infecciones asociadas a implantes) son procesos poco frecuentes en comparación con otros tipos de infecciones, pero son importantes al estar asociadas a un difícil manejo médico-quirúrgico y a numerosas complicaciones. Además, plantean importantes retos diagnósticos y de tratamiento que deben ser abordados de forma multidisciplinar con la colaboración de distintos especialistas, sobre todo cuando se trata de infecciones asociadas a implantes.

En general, su diagnóstico requiere una completa aproximación clínica y hasta el momento se ha basado en datos radiológicos, de medicina nuclear, en resultados de anatomía patológica y, microbiológicamente, en la tinción de Gram y el cultivo. En este sentido, la forma más eficaz de conocer el agente etiológico de cualquiera de estos procesos, es hasta el momento, su aislamiento en cultivo que además es el único método que permite instaurar un tratamiento correcto. El manejo clínico de la infección osteoarticular se beneficia en gran medida de un diagnóstico microbiológico rápido y preciso que permita instaurar un tratamiento antibiótico adecuado de forma precoz y así disminuir las importantes complicaciones que pueden derivar de un diagnóstico y tratamiento tardíos.

En este procedimiento se revisarán principalmente los métodos de diagnóstico microbiológico, haciendo pocas referencias al diagnóstico clínico y tratamiento, que en el caso de las infecciones osteoarticulares suele ser complejo y requerir la intervención de diferentes especialistas. En los últimos años, se han publicado excelentes revisiones sobre el diagnóstico y tratamiento de este tipo de infecciones, que se deben consultar para una mayor información sobre estos aspectos y como complemento al presente procedimiento (ver bibliografía).

2. ARTRITIS SÉPTICA.

2.1. INTRODUCION

La artritis séptica o artritis infecciosa, representa la invasión directa del espacio articular por diversos microorganismos que incluyen bacterias, virus y hongos. En oposición, la artritis reactiva es un proceso inflamatorio estéril, consecuencia de un proceso infeccioso localizado en otra parte del cuerpo.

Aunque cualquier agente infeccioso puede causar artritis séptica, los más frecuentes son los patógenos bacterianos de naturaleza piógena, por lo que la artritis séptica es la forma potencialmente más peligrosa y destructora de las artritis agudas, dando lugar en pocos días a la destrucción del cartílago. Por ello, requiere un tratamiento antibiótico empírico urgente, ya que el retraso en el diagnóstico y tratamiento conduce a la lesión irreversible de la articulación y a la incapacidad permanente. La artritis séptica conlleva tasas significativas de morbilidad y puede, a pesar de un tratamiento correcto, conducir a una bacteriemia e incluso a la muerte del paciente.

2.2. DEFINICIONES Y CLASIFICACIÓN

Se define como artritis séptica la infección de la articulación nativa causada por la llegada de bacterias patógenas de forma directa o, con mayor frecuencia, por vía hematógena.

El término artritis séptica generalmente se refiere a las infecciones causadas por bacterias piógenas, no incluyéndose en él las producidas por microorganismos que habitualmente no conducen a un deterioro articular tan rápido, como son las causadas por *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacterias, *Brucella* spp., *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, los microoganismos asociados a la enfermedad de Lyme, parvovirus y VIH. Tampoco se incluyen aquí las infecciones relacionadas con las prótesis articulares, que se exponen en elapartado 4 de este Procedimiento.

Clásicamente, las artritis bacterianas supurativas se han clasificado a tenor de sus importantes diferencias epidemiológicas, clínicas y pronósticas en dos grandes grupos: gonocócicas y no gonocócicas. En la actualidad, esta clasificación ha perdido vigencia, ya que la artritis gonocócica es actualmente poco frecuente en nuestro medio. Sin embargo, hace 20 años, *Neisseria gonorrhoeae* era el patógeno más frecuente (75% de los casos) en los individuos sexualmente activos más jóvenes.

Los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de padecer artritis séptica incluyen: edad superior a 65 años, diabetes mellitus, artritis reumatoide, cirugía articular previa, prótesis de rodilla y de cadera, traumatismos abiertos, infecciones cutáneas, drogadicción parenteral y, en menor medida, la infección por el VIH.

Los microorganismos causantes varían con la edad y las características del paciente. En general, *Staphylococcus aureus* es el microorganismo más frecuente tanto en los adultos de cualquier edad, como en los niños. Además, *S. aureus* es el agente causal en el 80% de las articulaciones infectadas en pacientes con artritis reumatoide.

No obstante, puede ser de utilidad agrupar a los pacientes según criterios epidemiológicos en relación con los agentes etiológicos más frecuentes, lo que permite abordar de forma empírica el tratamiento. Esta aproximación se indica a continuación:

- Niños menores de 5 años. Los microorganismos más frecuentes son *Streptococcus pyogenes Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. aureus*.
- Niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes. *S. aureus* (principal agente causal), *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*.
- Ancianos e inmunodeprimidos. Globalmente el agente más frecuente es *S. aureus*, aunque también deben tenerse en cuenta las infecciones por bacilos gramnegativos, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa* y diversas especies de estreptococos como *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* y *Streptococcus agalactiae*. El agente etiológico puede variar notablemente según el tipo de paciente:
  - Los pacientes diabéticos y aquellos los que padecen artritis reumatoide muestran una

particular predisposición a la infección por *S. aureus* (80%). En los pacientes diabéticos también es frecuente la infección por *S. agalactiae*.
  - En los pacientes con mieloma múltiple, hay que tener en cuenta *S. pneumoniae*.
  - En los pacientes cirróticos, *S. agalactiae, Escherichia coli* y otras enterobacterias.
  - En los pacientes neutropénicos predominan las infecciones por bacilos gramnegativos incluyendo *P. aeruginosa.*
  - Los pacientes leucémicos muestran predisposición a la infección por *Aeromonas* spp.
  - En los pacientes en tratamiento con corticoesteroides puede darse la posibilidad de infección por *Salmonella enteritidis*.
  - Los pacientes con hipogammaglobulinémia muestran predisposición a la infección por *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum* y otras especies de micoplasmas.
- Adictos a drogas por vía parenteral. Predominan las artritis producidas por *S. aureus*, en ocasiones en el contexto de una sepsis estafilocócica con o sin endocarditis. Más infrecuentemente, en algunos colectivos se han descrito infecciones por bacilos gramnegativos, incluidos *P. aeruginosa* o *Serratia* spp. (articulaciones sacroilíaca y esternoclavicular). En estos pacientes, y más raramente en otros, pueden afectarse las articulaciones axiales (esternoclavicular, condrocostal, sacroilíacas y la sínfisis del pubis), originándose, en realidad, una osteoartritis.

En todo caso, para tener una orientación sobre el agente causal es necesario tener en cuenta las características clínicas y la presencia concomitante de otros focos de infección.

2.3. PREVALENCIA

Tanto en los Estados Unidos como en Europa se producen aproximadamente 20.000 casos al año de artritis séptica (7,8 casos por 100.000 personas/año), mientras que la incidencia de la artritis por infección gonocócica diseminada es de 2,8 casos por 100.000 personas/año.

La artritis séptica se presenta en todos los grupos de edad, pero su prevalencia es mayor en los pacientes mayores de 65 años (45%) y en los que padecen una enfermedad subyacente inmunosupresora o anomalías articulares previas (especialmente artritis reumatoide). Para esta infección constituyen un grupo aparte los individuos adictos a drogas por vía parenteral, no presenta predisposición racial, y se distribuye con un discreto predominio en el género masculino.

La morbilidad primaria de la artritis séptica consiste en una disfunción significativa de la articulación, incluso si se realiza aspiración del material purulento y tratamiento antibiótico apropiado. La tasa de mortalidad global oscila entre el 7 y el 15%, a pesar de un tratamiento correcto y se relaciona principalmente con el microorganismo causante. En la artritis séptica por *N. gonorrhoeae* es extremadamente baja, mientras que en la artritis por *S. aureus* se aproxima al 50%.

2.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas varían según la edad y las condiciones del paciente. En los pacientes ancianos y en los inmunodeprimidos la enfermedad comporta una mayor gravedad y mortalidad (con frecuencia en el contexto de una sepsis).

En la artritis séptica, los pacientes presentan típicamente la tríada: fiebre (40-60% de los casos), dolor (75%) y restricción de los movimientos en la articulación afectada. Estos síntomas tienen una duración media de 1-2 semanas. La fiebre suele ser de bajo grado (< 39º C) y sin escalofríos (< 20%). La fiebre en picos y con escalofríos es más frecuente en la artritis cristalina.

Las artritis presentan características que pueden ayudar a su diferenciación de otros procesos reumatológicos u ortopédicos como:
- Comienzo agudo.
- Dolor que se superpone a un dolor articular crónico.
- Antecedentes previos de enfermedad articular (sobre todo artritis reumatoide), traumatismo articular, artrocentesis, aspiración articular o inyección de corticoesteroides.
- Generalmente, proceso monoarticular.
- Presencia de síntomas extraarticulares.
- Posibilidad de invasión vascular previa por cateterizaciones o consumo de drogas por vía parenteral.
- Afecciones o situaciones que disminuyen las defensas hepatopatía, diabetes mellitus, linfoma, neoplasia, alteraciones del complemento, hipogammaglobulinemia, alcoholismo, tratamiento inmunosupresor con corticoesteroides).
- Presencia de prótesis articulares

En la artritis puede afectarse cualquier articulación, pero se suelen afectar más las grandes que las pequeñas articulaciones: la rodilla es la más frecuente (50% de los casos), seguida de la cadera (20%), hombro (8%), tobillo (7%) y la muñeca (7%). Las otras articulaciones, codo, interfalángica, esternoclavicular y sacroilíaca se afectan con menor frecuencia (1-4%).

En la exploración física, cuando la articulación afectada es periférica, el diagnóstico es manifiesto por la presencia de tumefacción franca (90%), eritema, calor e inflamación. Cuando la articulación es profunda (cadera, hombro), estos signos pueden ser mucho menos evidentes. Igualmente, los signos y síntomas de infección pueden ser más discretos en personas de edad avanzada, inmunodeprimidos y en los usuarios de drogas por vía parenteral.

En cuanto al el número de articulaciones afectadas, clásicamente se acepta que la artritis séptica no gonocócica es, mayoritariamente, monoarticular (85-90% de los casos). Sin embargo, los datos actuales sugieren que hasta en un 22% de

los casos la presentación es poliarticular. Cuando esto sucede, la infección suele deberse a *S. aureus* y se da especialmente en los pacientes con artritis reumatoide, en los que en algunas ocasiones, se presentan conjuntamente un brote de enfermedad reumática y una artritis séptica. La presentación poliarticular suele ser más típica de la enfermedad gonocócica, infecciones víricas, enfermedad de Lyme, artritis reactiva y otros procesos no infecciosos.

La infección articular gonococócica puede tener dos formas de presentación:

- Afectación poliarticular, acompañada de fiebre y múltiples lesiones cutáneas (síndrome dermatitis-artritis), que se desarrolla inmediatamente después de la diseminación del gonococo a partir del cuello uterino, uretra o faringe. La afectación articular consiste en artralgias o tenosinovitis de distribución asimétrica. Típicamente se afectan las articulaciones de las manos, además de la rodilla, muñeca, tobillo y codo. Las lesiones cutáneas son múltiples pero nunca tan abundantes como las que se producen en la meningococemia y evolucionan de pápulas a pústulas o de vesículas a lesiones necróticas.
- Artritis monoarticular sin asociación de síntomas sistémicos, tenosinovitis, ni lesiones cutáneas, que se desarrolla más tarde en el tiempo después de la diseminación gonocócica. Puede ir precedido o no de un síndrome de dermatitis-artritis.

La artritis por *S. agalactiae* es más frecuente en las articulaciones sacroilíaca y esternoclavicular.

En la artritis tuberculosa los síntomas son bastante indolentes, por lo que el diagnóstico se puede retrasar durante años. Generalmente la prueba del derivado de proteína purificada (PPD) es negativa y no existen signos de tuberculosis pulmonar pasada o presente.

Las artritis víricas generalmente muestran una afectación asimétrica de las pequeñas articulaciones, especialmente de las manos, acompañada de un exantema cutáneo concomitante. En la hepatitis B y C aparece en la fase preictérica y se resuelven a medida que se desarrolla la ictericia. En la hepatitis B, la artritis puede evolucionar a la cronicidad.

Las artritis por *Candida* spp., tienden a producirse en un grupo de pacientes seleccionados que incluye a inmunodeprimidos, portadores de catéter venoso central, receptores de antibióticos de amplio espectro y usuarios de drogas por vía parenteral. *Candida albicans* es la especie más frecuente, pero también se han encontrado involucradas *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*. En la mayoría de los pacientes la infección articular se produce por diseminación hematógena a partir de un episodio de candidemia previo y las localizaciones preferentes son los discos intervertebrales y la rodilla. En el resto de los pacientes, la inoculación es exógena después de un traumatismo, inyección intraarticular, procedimiento quirúrgico, inyección de drogas por vía parenteral (sobre todo heroína). En este último caso, se desarrolla un síndrome único que consiste en artritis (condrocostal o esternoclavicular), endoftalmitis y foliculitis (facial, en cuero cabelludo o en el tórax).

La enfermedad de Lyme puede presentarse como una artritis aguda. En el 60% de los pacientes, la artritis puede desarrollarse semanas o meses después del exantema característico con fiebre y artralgias migratorias. La artritis afecta a una o dos grandes articulaciones simultáneamente (con frecuencia a la rodilla). El patrón típico consiste en ataques que duran de semanas a meses separados por períodos de remisión completa en un curso de recaídas que casi siempre preceden al estadio crónico (inflamación articular de >1 año de duración) de la artritis de Lyme. Típico de este cuadro es la desproporción entre el grado de inflamación y la sensación de dolor. Los pacientes, generalmente, son o proceden de un área endémica y el antecedente de picadura de garrapata y una exposición estacional puede ayudar al diagnóstico.

La artritis por *Brucella* spp. se produce en el 10-30% de los pacientes con brucelosis y afecta preferentemente a las articulaciones de la columna lumbosacra.

La artritis reactiva generalmente comienza varias semanas después de que la infección subyacente se haya resuelto. Hay muy pocos síntomas sistémicos concurrentes y suele afectar a varias articulaciones grandes de forma asimétrica.

La bursitis séptica, que afecta con mayor frecuencia al olécranon y a la bolsa prerrotuliana, es una infección (generalmente causada por *S. aureus*) limitada, que cursa con inflamación y dolor, pero no representa una verdadera infección de la articulación subyacente.

2.5. ETIOPATOGENIA

Los agentes etiológicos de la artritis séptica más frecuentes (91% de los casos) son *S. aureus* (la causa más frecuente) y las especies de estreptococos (*Streptococcus* del grupo *viridans*, *S. pneumoniae* y estreptococos del grupo B). La artritis por *S. pneumoniae* se encuentra especialmente relacionada con los pacientes con anemia drepanocítica o mieloma. Los bacilos gramnegativos aerobios están involucrados en el 20-25% de los casos (sobre todo en niños, ancianos, inmunodeprimidos o usuarios de drogas por vía intravenosa).

En cuanto a *N. gonorrhoeae*, en la actualidad en España, como en otros países europeos, se estima que la artritis gonocócica supone menos de 11% del total, e incluso entre los usuarios de drogas por vía parenteral no supera el 3% de las infecciones osteoarticulares.

Otros agentes etiológicos asociados con mucha menor frecuencia incluyen *Pasteurella multocida* y *Capnocytophaga* spp. (mordeduras de perros y gatos); *Eikenella corrodens*, anaerobios, especialmente *Fusobacterium nucleatum* y estreptococos (mordedura humana); *Aeromonas hydrophila* (leucemia mieloide); estafilococos coagulasa negativa, bacilos gramnegativos y

Propionibacterium spp. (articulaciones protésicas); *Candida* spp. (especialmente frecuente en usuarios de drogas por vía parenteral); *Brucella* spp., *M. pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *M. hominis* y *M. fermentans* (pacientes con hipogammaglobulinemia, inmunosupresión, linfoma); *Mycobacterium marinum* (exposición al agua) y *Sporothrix schenckii* (jardineros).

Las infecciones articulares polimicrobianas (5-10% de los casos) y la infección por microorganismos anaerobios (5% de los casos) suelen aparecer como consecuencia de un traumatismo o una infección abdominal.

Entre los microorganismos que pueden producir infección articular no supurativa se encuentran *Borrelia burgdorferi*, una gran variedad de virus (como los virus de la coriomeningitis linfocitaria, VIH, hepatitis B, rubéola), micobacterias, micoplasmas y hongos (*Histoplasma* spp., *Sporothrix schenckii*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*) entre otros.

Debido a una combinación de factores, la etiología de la artritis séptica está cambiando. Entre ellos se encuentra el aumento de artroplastias quirúrgicas, en las que la presencia de una prótesis favorece la infección por estafilococos coagulasa negativa, *Corynebacterium* spp. y *Propionibacterium* spp., agentes totalmente inusuales en la infección de las articulaciones nativas. Por otra parte, también son causa de infección las cepas comunitarias de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y el aumento de pacientes con inmunosupresión iatrogénica o infección por el VIH, favorece el aumento de las infecciones articulares por microorganismos inusuales.

La principal consecuencia de la invasión bacteriana de la articulación es la lesión del cartílago articular. Los microorganismos acceden a la articulación por vía hematógena (lo más frecuente), por inoculación directa (traumatismo, mordedura, cirugía) o por extensión directa de una infección ósea adyacente al espacio articular.

Inicialmente, las bacterias que penetran en la articulación se depositan en la membrana sinovial produciendo una respuesta celular inflamatoria aguda. El tejido sinovial no tiene una membrana basal limitante, por lo que los organismos infectantes pueden pasar fácilmente al líquido sinovial y dar lugar a la inflamación purulenta de la articulación. En los 5-6 días siguientes se produce una marcada hiperplasia de las células de la membrana sinovial. Además, las células inflamatorias liberan citocinas, proteasas y otros productos inflamatorios, lo que da lugar a la hidrólisis del colágeno y de proteoglucanos esenciales que causan la degradación del cartílago e inhiben su síntesis. A esto se añaden las particulares propiedades patogénicas de cada microorganismo, como en el caso de *S. aureus*, que además del tropismo que promueve su unión a la membrana sinovial (mediante unión a la sialoproteína articular, fibronectina del colágeno, elastina, ácido hialurónico) posee proteasas condrocíticas y toxinas que inducen una potente respuesta inflamatoria.

Investigaciones recientes apoyan el concepto de que el tratamiento eficaz requiere no sólo la eliminación del agente patógeno sino también, la regulación a la baja de la respuesta inmunitaria exagerada, que parece ser un impedimento, en lugar de una ayuda, a los mecanismos defensivos del hospedador.

A medida que el proceso destructivo continua, comienza la formación de tejido de granulación sinovial (paño sinovial) y se produce la erosión del cartílago en los márgenes laterales de la articulación. Los grandes derrames, que pueden producirse en las articulaciones mayores (cadera), impiden el aporte de sangre y tienen como consecuencia la necrosis aséptica del hueso. Todos estos procesos destructivos pueden aparecer precozmente en el curso de una infección no tratada. De ahí, que se considere la artritis séptica como una urgencia médica.

Por el contrario, la infección por otros microorganismos (*N. gonorrhoeae*) induce un flujo de leucocitos polimorfonucleares relativamente moderado dentro de la articulación. Este hecho explica, en parte, la mínima destrucción articular observada en la infección por estos microorganismos, cuando se compara con la destrucción asociada a la infección por *S. aureus*.

En los adultos, la anastomosis arteriolar entre la epífisis del hueso y la membrana sinovial permite la diseminación de la osteomielitis dentro del espacio articular.

La articulación normal posee varios componentes protectores. Por una parte, las células sinoviales ejercen una actividad fagocítica importante y por otra, el líquido sinovial tiene una actividad bactericida significativa. En la artritis reumatoide y en el lupus eritematoso sistémico las funciones defensivas del líquido sinovial se encuentran alteradas y hay una disminución de la quimiotaxis y de la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares lo que hace que este tipo de pacientes sean más susceptibles a la infección del espacio articular. La membrana sinovial de estas articulaciones muestra una neovascularización y un aumento de los factores de adhesión; ambas situaciones aumentan la posibilidad de que si se produce una bacteriemia, ésta tenga como consecuencia la infección de la articulación.

Las infecciones víricas, pueden causar invasión directa (rubéola) o producir complejos antígeno-anticuerpo. Se han descrito estos mecanismos inmunológicos en las infecciones por hepatitis B, parvovirus B19 y por virus de la coriomeningitis linfocitaria.

La artritis de la enfermedad de Lyme se produce generalmente por un mecanismo inmunológico, siendo una minoría los casos producidos por invasión directa por el organismo.

Las artritis reactivas, se observan con más frecuencia en los pacientes con antígenos de histocompatibilidad de tipo HLA-B27. Aunque la artritis reactiva puede producirse en asociación con varias infecciones, los procesos gastrointestinales son con mucho los más frecuentes. Los patógenos

gastrointestinales que se asocian incluyen: *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Shigella sonnei*, *Entamoeba histolytica* y *Criptosporidium* spp. Las infecciones genitourinarias, especialmente las debidas a *Chlamydia trachomatis*, son la segunda causa más frecuente de artritis reactiva. En mucha menor medida, se han descrito asociadas también a infecciones por *Mycoplasmas*, particularmente *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum, y Mycoplasma hominis.*

2.6. DIAGNÓSTICO NO MICROBIOLÓGICO

El "patrón de referencia" para el diagnóstico no microbiológico de la artritis séptica es sobre todo el grado de sospecha clínica. Típicamente, la artritis séptica se presenta como una historia de dolor, inflamación, calor y limitación de movimientos en la articulación afectada, pero en la práctica ninguna característica clínica es significativamente específica para el diagnóstico de la artritis séptica. Muchas otras afecciones, incluidas la artritis por cristales y la artritis reumatoide, pueden también presentar fiebre, inflamación, dolor y rigidez articular.

El diagnóstico diferencial de la artritis séptica bacteriana incluye cuadros clínicos como la gota, pseudogota, artritis reactiva, artritis reumatoide (y sus reagudizaciones), artritis víricas y la enfermedad de Lyme, cada uno de los cuales puede presentarse con una afectación aguda de una o varias articulaciones. No son específicos para el diagnóstico de la artritis séptica ninguno de los parámetros habituales en sangre periférica (velocidad de sedimentación eritrocitaria, recuento leucocitario), ni tampoco las determinaciones en el líquido sinovial de las concentraciones de glucosa y proteínas.

La determinación de la velocidad de sedimentación eritrocitaria y de la proteína C reactiva pueden tener utilidad para el seguimiento de la respuesta al tratamiento, así como para detectar un proceso agudo en las articulaciones afectadas crónicamente. Igualmente, pueden ser de utilidad las pruebas serológicas para diagnóstico de alteraciones reumatológicas.

De las citocinas inflamatorias presentes en líquido sinovial únicamente el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) presenta una sensibilidad (95%) y especificidad (71%) para el diagnóstico de artritis séptica, pero no se recomienda su determinación.

En cuanto al diagnóstico por imagen:

- La radiografía simple tiene un valor limitado en la evaluación de la infección, sólo permite mostrar la inflamación del tejido periarticular y excluir una osteomielitis periarticular o subyacente.
- La ecografía es útil para diagnosticar los derrames articulares.
- La tomografía computerizada y la resonancia magnética, más sensibles para distinguir osteomielitis, abscesos periarticulares y derrames articulares, pueden dar imágenes imprecisas que también se observan en artropatías inflamatorias no infecciosas. Sin embargo, donde muestran su mayor utilidad es en los pacientes con infección articular sacroilíaca o esternoclavicular, porque permiten excluir la extensión de la infección dentro del mediastino o de la pelvis.
- La gammagrafía con Tecnecio 99m, Galio 67 o Indio 111 se emplea para localizar áreas de inflamación especialmente en las articulaciones de la cadera y sacroilíaca.

Por lo tanto, el diagnóstico no microbiológico se basa en:

- La obtención de una historia minuciosa que incluya todos los antecedentes del paciente, en particular la existencia de una enfermedad articular subyacente (especialmente artritis reumatoide), la posible presencia de enfermedades de transmisión sexual, exposición a picaduras de garrapatas (enfermedad de Lyme), diabetes, inmunodeficiencias, aspiraciones e inyecciones intraarticulares, enfermedad diarreica, etc.
- El examen cuidadoso de la articulación en cuanto a signos de eritema, inflamación (90% de los casos), calor y dolor a la palpación.
- Presencia de un derrame aparente, asociado con una marcada limitación de los movimientos activos y pasivos. No obstante, hay que tener en cuenta que en las articulaciones profundas (cadera, vertebrales) estos hallazgos pueden encontrarse atenuados o pobremente localizados y que los signos y síntomas de infección pueden estar silenciados en las personas de edad avanzada, inmunodeprimidos (especialmente si además tienen una artritis reumatoide) y en los usuarios de drogas por vía parenteral.
- La aspiración urgente del líquido articular.
- La evaluación del aspecto macroscópico del líquido obtenido por artrocentesis:
  - El líquido de una articulación normal es de volumen escaso, claro, sin color y consistencia viscosa.
  - Un líquido transparente y viscoso corresponde, en general, a un problema mecánico.
  - Un líquido con aspecto macroscópico turbio, de color amarillo-verdoso es sospechoso de infección articular.
- El recuento leucocitario en el líquido sinovial junto con la determinación del porcentaje de polimorfonucleares constituyen el principal dato diagnóstico, mientras se esperan los resultados del estudio microbiológico. Existe cierta controversia en cuanto al valor del recuento leucocitario para la diferenciación entre infección y otras causas de inflamación articular, por lo que este dato debe usarse en conjunción con los hallazgos clínicos para establecer un tratamiento, hasta que se conozcan los resultados de la tinción de Gram y el cultivo del líquido sinovial. No obstante se admite que:

- Un recuento celular entre 10.000-30.000 células/mm^3, es poco probable que corresponda a una artritis séptica, debiéndose plantear otras artritis infecciosas o artritis no infecciosas (depósito de microcristales, artritis reactivas u otras enfermedades traumáticas).
- Un recuento celular de >50.000 células /mm^3 (habitualmente entre 50.000–150.000 células/mm^3), con más del 75% de polimorfonucleares es altamente sugestivo de artritis séptica.
- A medida que aumenta el recuento de leucocitos, aumenta la probabilidad de artritis séptica.
- La presencia de eosinofilia en el líquido sinovial, sugiere infección parasitaria, neoplasia o enfermedad de Lyme.

- Investigación de la presencia de microcristales (urato monosódico y pirofosfato cálcico) mediante la observación por microscopia de luz polarizada para el diagnóstico de la gota o pseudogota.

2.7. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El diagnóstico microbiológico se basa en la positividad de la tinción de Gram, el cultivo del líquido sinovial o de la membrana sinovial y en la presencia de un cuadro clínico compatible asociado a dos o más hemocultivos positivos para el mismo microorganismo.

En los pacientes en los que se produce una osteoartritis por afectación de las articulaciones axiales (esternoclavicular, condrocostal, sacroilíacas y sínfisis del pubis) y en los que no se produce un acúmulo significativo de líquido articular y no se puede obtener muestra para cultivo, el diagnóstico se basa en la positividad de los hemocultivos y en las pruebas radiológicas y gammagráficas. Sólo en algunos casos seleccionados en los que se practica la punción o la biopsia puede realizarse el cultivo de estas muestras.

El estudio microbiológico del líquido articular incluye: la tinción de Gram y la siembra en medios de cultivo convencionales con incubación aerobia y anaerobia. La inclusión de otras tinciones y cultivos específicos depende de los diagnósticos diferenciales considerados.

Tinción de Gram:

- Proporciona una información útil e inmediata en relación con el diagnóstico y la orientación del tratamiento. En ocasiones, puede ser el único dato de infección cuando se debe a organismos exigentes que no son capaces de crecer en el cultivo. A pesar de su utilidad, la sensibilidad y especificidad de la tinción de Gram no están bien definidas.
- En la artritis bacteriana no gonocócica, se estima que la sensibilidad oscila del 29% al 50% (máxima sensibilidad en la infección por *S. aureus*). En la artritis gonocócica, la sensibilidad es mucho más baja, probablemente <10%. Por el contrario, la especificidad es siempre muy elevada.

El **cultivo del líquido** o de la membrana sinovial es el método diagnóstico definitivo de la artritis séptica, por lo que deben ser rutinariamente enviados para cultivo cuando se obtengan. En los pacientes con artritis séptica no tratada, el cultivo del líquido articular resulta positivo en el 80-90% de los casos. En la infección gonocócica, los cultivos del líquido articular son positivos en sólo un 25% de los casos.

Hay que tener en cuenta que la ausencia de resultados positivos en el cultivo y en la tinción de Gram, no excluye una artritis séptica. En relación con el recuento leucocitario del líquido sinovial y aunque la probabilidad de artritis séptica aumenta con el aumento del recuento de leucocitos, hay que tener en cuenta que, un elevado número de leucocitos en el líquido sinovial no siempre se corresponde con una infección articular. Otros procesos estériles, denominados “pseudoartritis” (como reacciones a inyecciones intraarticulares, infiltración leucémica y la gota) pueden producir un grado de infiltración leucocitaria similar.

En los casos confirmados por cultivo, debe instaurarse tratamiento antibiótico considerando la sensibilidad de los aislados. Pero si los cultivos son negativos y el recuento celular en el líquido articular es >50.000 células/mm^3 y se han excluido otras enfermedades reumáticas, así como en los casos en los que no se disponga de recuento celular, pero exista una alta sospecha clínica, se debe mantener el diagnóstico e instaurar tratamiento antibiótico empírico. En los casos con cultivo negativo en los que no se cumplan las condiciones anteriores debe considerarse el diagnóstico como poco probable.

Otros aspectos que deben tenerse en cuenta en el diagnóstico microbiológico son:

- Las limitaciones más frecuentes de la positividad del cultivo son la administración de antibióticos previa a la artrocentesis y la infección por microorganismos atípicos.
- El cultivo del tejido sinovial está principalmente indicado para la detección de micobacterias y hongos.
- Los hemocultivos son positivos en el 50-70% de los casos. En el síndrome dermatitis-artritis gonocócico, el microorganismo puede aislarse del hemocultivo o de las superficies mucosas; sin embargo, los cultivos del líquido articular suelen ser negativos.
- Ante una posible infección gonocócica, deben obtenerse cultivos del recto, cuello uterino, uretra, faringe y de las lesiones cutáneas.
- También se considera criterio etiológico la positividad de las pruebas serológicas para *Brucella* spp.o *Salmonella typhi* en conjunción con un cuadro compatible.
- En la enfermedad de Lyme, el cultivo tiene el máximo valor diagnóstico, ya que una serología positiva no necesariamente establece una conexión entre los síntomas y la enfermedad. Sin embargo, *B. burgdorferi* generalmente no se

suele cultivar del líquido sinovial. Las tinciones de plata detectan el microorganismo en sólo el 5% de los casos y la PCR para la detección del ADN del microorganismo no se utiliza de modo rutinario. Todo ello dificulta el establecimiento del diagnóstico, a menos que exista un antecedente de picadura por garrapata.

- En la artritis causada por *M. tuberculosis*, el líquido sinovial muestra un número elevado de leucocitos, sin embargo la tinción para bacterias ácido-alcohol resistentes suele ser negativa (sensibilidad del 20%). Los cultivos del líquido sinovial son positivos en el 80% de los casos y los del tejido sinovial en el 94% de los casos. El diagnóstico recae en la tríada de cultivo del líquido o de biopsia de la membrana sinovial, tinción de ácido-alcohol resistencia y el examen histológico. Las técnicas de PCR han demostrado ser más sensibles que el cultivo en algunos estudios.

3. OSTEOMIELITIS

3.1. INTRODUCCIÓN

La osteomielitis se define como la infección de la cortical, la médula o ambas estructuras del hueso. Actualmente, se observa un aumento de su incidencia en relación con el aumento de pacientes politraumatizados, diabéticos con lesiones en los pies, pacientes con úlceras por presión y portadores de implantes osteoarticulares.

3.2. CLASIFICACIÓN

Existen dos clasificaciones de importancia, una descrita por Cierny y Mader y otra por Lee y Waldvogel. Cierny y Mader definen doce grupos diferentes al combinar la localización anatómica en el hueso (medular, superficial, localizada, o difusa), el grado de inmunosupresión del huésped, y la existencia de factores locales. Lee y Waldovgel clasifican la osteomielitis según la duración de los síntomas, aguda o crónica, y según el mecanismo de infección, hematógena o por contigüidad. La infección por contigüidad la subdividen según el grado de insuficiencia vascular asociada.

3.3. PREVALENCIA

La osteomielitis hematógena predomina en niños y asienta en la metáfisis de huesos largos (fémur y tibia). En los adultos sin embargo, predomina en vértebras dorsales y lumbares, afectando más frecuentemente dos cuerpos contiguos y el disco intervertebral (espondilodiscitis). La osteomielitis hematógena suele ser monomicrobiana. Menos del 10% se cronifican.

La osteomielitis por contigüidad, desde un foco infeccioso adyacente o causada por inoculación directa tras traumatismo abierto o cirugía, es en la actualidad la más prevalente. Todas se consideran por definición como osteomielitis crónicas. La osteomielitis por insuficiencia vascular es la que se produce en el pie diabético.

3.4. ETIOLOGÍA

La osteomielitis se puede producir en general, por cualquier microorganismo aunque lo más frecuente es que su etiología sea bacteriana y con un claro predominio de los cocos grampositivos siendo *S. aureus* sensible el agente más frecuente. En los últimos años, se ha descrito un aumento de incidencia de las osteomielitis causadas por SARM) *S. epidermidis* es el microorganismo más frecuente en las formas asociadas a material de osteosíntesis o prótesis articulares.

En general los estreptococos y los enterococos son poco comunes como agentes causales de la osteomielitis aunque *S. agalactiae* se ha observado en las edades extremas de la vida y en pacientes inmunodeprimidos.

Las enterobacterias producen generalmente osteomielitis postquirúrgicas o postraumáticas, de evolución crónica y adquisición nosocomial. *P. aeruginosa* es frecuente en osteomielitis asociadas a pie diabético y osteomielitis de huesos del pie tras heridas punzantes.

Otras bacterias como *Brucella* spp. y *Salmonella* spp. son poco frecuentes en la actualidad. La primera suele causar osteomielitis vertebral y la segunda se puede observar en pacientes con inmunodepresión o drepanocitosis.

La osteomielitis por anaerobios se considera poco frecuente, y los anaerobios habitualmente aparecen en infecciones polimicrobianas. Suele afectar huesos de la cara, pie diabético, en lesiones asociadas a mordeduras y en úlceras por presión. Es posible que la prevalencia de las bacterias anaerobias en la infección ósea no esté bien estimada debido a una incorrecta toma y procesamiento de las muestras.

La manifestación más clásica de la infección ósea por *M. tuberculosis* es la espondilodiscitis, aunque también puede afectar a otro tipo de articulaciones.

Los hongos que producen osteomielitis suelen ser *Candida* spp. y *Mucor* spp., habitualmente en pacientes inmunodeprimidos.

Equinococcus granulosus es causa de infección ósea parasitaria en zonas endémicas, aunque actualmente su incidencia es muy baja.

3.5. MANFESTACIONES CLÍNICAS

En la osteomielitis hematógena de los niños es frecuente la fiebre brusca con escalofríos, malestar general, inflamación y dolor local. En la osteomielitis hematógena vertebral del adulto aparece dorsalgia aguda o insidiosa y puede aparecer fiebre.

La osteomielitis por contigüidad se manifiesta generalmente de forma precoz tras la inoculación. No siempre aparece fiebre, pero sí es constante el dolor, la tumefacción local y en ocasiones la supuración a través de una fístula.

En la osteomielitis asociada a insuficiencia vascular, pueden observarse áreas de celulitis o úlceras profundas infectadas apareciendo la mayoría de ellas en los pies.

3.6. DIAGNÓSTICO NO MICROBIOLÓGICO

La osteomielitis aguda es difícil de diagnosticar ya que, al principio de la infección, no aparecen signos radiológicos definitivamente sugerentes. Se debe sospechar si existe dolor o inflamación localizado en el hueso, asociado fiebre o a aumento de reactantes de fase aguda (PCR, VSG). Puede aparecer leucocitosis en sangre periférica y en ocasiones los hemocultivos pueden ser positivos.

El diagnóstico clínico de la osteomielitis crónica es sencillo, suele existir una fístula que comunica el hueso con el exterior y en la radiología simple se pueden observar signos tales como reabsorción ósea, secuestro o involucro (neoformación ósea). El diagnóstico no microbiológico de la osteomielitis se basa en la realización de las siguientes pruebas:

- Radiología simple. Siempre es necesario realizar una radiografía simple a pesar de las limitaciones que se describen a continuación: en los primeros días suele ser de poca utilidad, sólo muestra alteraciones de partes blandas por la extensión de la infección a estas zonas. Las lesiones óseas iniciales se aprecian cuando ya existe una pérdida de contenido cálcico de al menos el 35%, esto no ocurre hasta después de la segunda semana desde el comienzo de la infección. Los primeros signos son osteoporosis, lesiones líticas, despegamiento del periostio y reacción perióstica. Posteriormente, aparecerán las lesiones características de los procesos crónicos ya mencionado.

- Técnicas gammagráficas. Es el método diagnóstico más rápido. Tiene una sensibilidad del 90% pero una especificidad del 50%. El Tecnecio-99 meta-estable-metilen-difosfonato es captado por el hueso donde aparece aumento de vascularización y diferencia lesión ósea de tejido blando. Si se asocia con Citrato de Galio 67 la especificidad mejora. Las técnicas que utilizan los leucocitos marcados con Indio 111 o con Tecnecio 99 meta-estable-hexametilpropil-enamina-oxima (99m Tc-HMPAO) son un poco más específicas que las anteriores. Lo importante es el alto valor predictivo negativo de estas técnicas, que permite excluir infección si la prueba es negativa.

- TAC y RMN. La tomografía computerizada (TAC) y la resonancia magnética nuclear (RMN) son las pruebas con mayor especificidad y sensibilidad. Permiten detectar la presencia de edemas, destrucción medular, reacción perióstica, lesión cortical, daño articular, y alteración de partes blandas, aún cuando la radiología simple es normal. La TAC puede presentar artefactos por el propio hueso o por la presencia de metal y la RMN está contraindicada si existen implantes ferromagnéticos. La RMN está especialmente indicada en el diagnóstico de osteomielitis de columna vertebral.

- Ecografía. Los criterios ecográficos para el diagnóstico de osteomielitis son: colección adyacente al hueso y elevación del periostio de 2 mm, engrosamiento del periostio con zonas hipoecoicas, e inflamación de la musculatura y los tejidos blandos adyacentes

- Estudios histopatológicos. Pueden ser necesarios para la confirmación del diagnóstico de osteomielitis en biopsia ósea, donde se observa necrosis ósea, reabsorción y exudado inflamatorio.

3.7. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El diagnóstico microbiológico es crucial para instaurar el tratamiento antibiótico. En general se debe evitar la toma de muestras con torunda de heridas, úlceras o exudados de fístula, ya que pueden estar contaminados con los microorganismos habituales de la piel. El valor predictivo del cultivo de exudados de fístulas es inferior al 50% para *S. aureus* y aún más bajo para otros microorganismos.

Las muestras adecuadas para el diagnóstico de la osteomielitis son:

1. Hemocultivos
2. Muestra obtenida por punción de absceso cerrado
3. Biopsia ósea

Los hemocultivos pueden ser positivos en aproximadamente la mitad de las osteomielitis agudas. Sin embargo, no se puede obviar la obtención de muestras óseas si se cultiva un microorganismo en sangre que habitualmente no produciría osteomielitis.

La obtención de muestras de abscesos cerrados asociados a infección ósea es muy útil para establecer el diagnóstico etiológico; si la obtención de la muestra es adecuada se puede evitar el sobrecrecimiento de microorganismos de la piel, como sucedería en los cultivos de exudados de fístulas.

La biopsia ósea puede realizarse de forma percutánea o abierta. Cuando existe secuestro óseo accesible, identificado adecuadamente con técnicas de imagen, la biopsia ósea tiene un importante valor. Los cultivos de este tipo de muestra son positivos hasta en el 87% de los casos de osteomielitis. La biopsia abierta es preferible a la percutánea, sobre todo si se precisa desbridamiento y limpieza quirúrgica de la zona. Idealmente la biopsia se debe obtener antes del inicio de la antibioterapia y el envío de más de una muestra ósea aumenta la rentabilidad diagnóstica.

4. INFECCIONES ASOCIADAS CON IMPLANTES

4.1. INFECCIÓN RELACIONADA CON PRÓTESIS ARTICULARES

4.1.1 Introducción. El empleo de prótesis articulares ha sido uno de los grandes avances de la cirugía ortopédica de las últimas décadas y ha mejorado la calidad de vida de muchos pacientes. Actualmente, en los países desarrollados un gran número de pacientes son portadores de una prótesis articular (se ha calculado que más de 1,3 millones de personas en Estados Unidos).

Las complicaciones asociadas con la implantación de una prótesis articular son poco frecuentes, siendo la principal la movilización aséptica de la prótesis

seguida de la infección. En muchas ocasiones, es muy difícil distinguir entre ambas, sin embargo su diferenciación es fundamental ya que el tratamiento requerido por cada una de ellas es muy diferente.

De todas las complicaciones que se pueden presentar tras la implantación de una prótesis articular, la más grave es la infección, que requiere tratamientos largos y complejos con una elevada morbilidad asociada. La infección de prótesis articular (IPA) se asocia a un alto índice de recidivas y produce un elevado número de fracasos quirúrgicos que hacen necesarias las reintervenciones y en muchas ocasiones, la retirada de la implante con la pérdida total de la funcionalidad articular y consiguiente limitación de la movilidad, lo que deteriora en gran medida la calidad de vida de los pacientes. La IPA se asocia a un elevado incremento de costes sanitarios y contribuye a aumentar la mortalidad al afectar en general a pacientes de edad avanzada y con enfermedades de base debilitantes.

4.1.2 Clasificación y manifestaciones clínicas. Uno de los principales retos a la hora de abordar el fracaso de una prótesis articular es distinguir cuando se produce por una movilización aséptica y cuando está presente una infección. En el caso de las IPA es necesario instaurar un tratamiento antibiótico adecuado de forma precoz y elegir el abordaje quirúrgico más conveniente en cada caso, para mejorar el pronóstico y minimizar las complicaciones.

El diagnóstico clínico de la IPA no es fácil, ya que las manifestaciones clínicas que se producen pueden ser muy variables y no son siempre específicas de una infección. Además, por el momento no hay ninguna prueba diagnóstica con suficiente sensibilidad y especificidad para permitir decidir cuando una prótesis está infectada, de modo que actualmente el diagnóstico se realiza considerando un conjunto de datos analíticos, de imagen, microbiológicos e histopatológicos.

Se han sugerido distintas clasificaciones de la IPA, considerando la ruta posible de adquisición de la infección (hematógenas, por contigüidad o perioperatorias) y el tiempo de aparición de la misma desde la cirugía (precoces, intermedias o tardías), pero la más aceptada es la establecida por Tsukayama y cols. que tiene sobre todo en cuenta el tiempo de aparición de la infección tras la colocación de la prótesis y que las clasifica en:

- Infección post-quirúrgica precoz: cuando los primeros síntomas de la infección aparecen dentro del primer mes desde la implantación de la prótesis (algunos autores consideran el periodo de tres meses). Las manifestaciones clínicas aparecen de forma aguda y se caracterizan por inflamación local de la articulación, dolor, infección de la herida quirúrgica con supuración, presencia de una fístula que comunica con la prótesis y a veces celulitis y fiebre. Generalmente es difícil distinguir cuando la infección es superficial o afecta a la prótesis.
- - Infección post-quirúrgica tardía: aparece de forma crónica después de los dos meses de la cirugía. Los síntomas principales suelen ser el dolor y la movilización de la prótesis que aparecen de forma larvada, lo que hace difícil su diferenciación con la movilización aséptica de la prótesis. La fiebre suele estar presente sólo en la mitad de los casos.Infección hematógena: puede aparecer de forma precoz o tardía y se asocia a una bacteriemia previa, que da lugar a una "siembra" del implante. Normalmente da lugar a manifestaciones clínicas agudas. La bacteriemia que la origina suele tener un foco en la piel (*S. aureus* y *S. pyogenes*), en catéteres (*S. epidermidis*), en infecciones o manipulaciones odontológicas (*Streptococcus* del grupo *viridans* y anaerobios) o en infecciones urinarias o gastrointestinales (*E. coli*, *Enterococcus* spp., anaerobios).
- Infección asociada a cultivos intraoperatorios positivos: se define cuando el paciente llega a la cirugía de revisión sin sospecha clara de IPA, pero los cultivos de las muestras tomadas durante la cirugía son positivos. Suelen ser infecciones subclínicas y normalmente se descubren cuando ya se ha realizado el recambio de la prótesis. En estos casos es muy importante diferenciar si los cultivos son verdaderamente positivos o el crecimiento de microorganismos se debe a una contaminación en la obtención o manipulación de la muestra.
- Algunos autores reconocen un tipo de infección intermedia que se produce entre el segundo mes y los dos años después de la cirugía. En este caso muy posiblemente microorganismos "poco virulentos" llegan a la articulación durante la cirugía pero sus manifestaciones clínicas se producen de forma tardía.

4.1.3. Prevalencia. El empleo en los últimos años de profilaxis antibiótica y flujo laminar durante la cirugía han disminuido en gran medida la incidencia de IPA en las dos últimas décadas. En distintas publicaciones internacionales se ha descrito que las complicaciones asociadas con la implantación de prótesis articulares aparecen en menos de un 10% de los casos, siendo la infección infrecuente entre ellas, con un 1% en prótesis de cadera en los primeros 2 años, 2% en prótesis de rodilla y un porcentaje menor en el caso de las prótesis de hombro, cuando se habla de artroplastias primarias. En el caso de reimplantación de una prótesis el porcentaje de infección puede aumentar hasta el 40%.

El elevado número de artroplastias que se realizan en los países desarrollados hace que aunque los porcentajes de infección sean pequeños, el número de pacientes afectados sea muy importante. Se ha calculado que en Estados Unidos se implantaron unas 700.000 prótesis durante el año 2005, y el número de casos de IPA fue de 9.800 predominando la infección de prótesis de rodilla. En España hay pocos datos, pero se ha descrito que se realizan unas 30.000 artroplastias/año y que la incidencia

media de infección es del 3-4%. La IPA se asocia a una gran morbilidad con una mortalidad asociada del 2-7% en pacientes de edad avanzada. El coste económico del manejo de una artroplastia infectada puede ascender a 10 veces su valor inicial.

Los principales factores de riesgo que se han relacionado con una mayor probabilidad de sufrir una IPA están asociados con las enfermedades de base del paciente como artritis reumatoide, psoriasis, inmunodepresión, diabetes, obesidad, edad muy avanzada, enfermedades malignas y en gran medida con haber sufrido el recambio previo de una prótesis o una infección de la herida quirúrgica.

La bacteriemia es también un factor de riesgo para sufrir una infección de prótesis hematógena, aunque en algunos estudios se destaca que este riesgo es bajo (0,3%), otros estudios describen que en el caso de bacteriemia por *S. aureus* el riesgo aumenta considerablemente (hasta un 30%). El riesgo de infección hematógena parece ser mayor en prótesis de rodilla que de cadera.

4.1.4. Etiopatogenia. En principio, casi cualquier microorganismo puede causar una IPA. Las especies de microorganismos asociados con IPA varían en función del tipo de prótesis, el tiempo transcurrido desde la cirugía de implantación, de los factores de riesgo de paciente y de la localización de la prótesis. En general, hay un claro predominio de los cocos grampositivos y entre ellos de los estafilococos, que causan alrededor del 60% de los casos de IPA (30-40% los estafilococcos coagulasa negativa y 12-23% *S. aureus*). Los estreptococos, enterococos y bacilos gramnegativos (incluida *P. aeruginosa*) representan en torno al 10% de los casos. La proporción de anaerobios es baja (2-4%), siendo el más frecuente *Propionibacterium acnes*. Se ha descrito que cerca de un 10% son infecciones mixtas y en el 11% de los casos, sorprendentemente no se aísla ningún microorganismo en cultivo. Las IPA causadas por otras bacterias, hongos o micobacterias son más raras. El bajo porcentaje de bacterias anaerobias y la elevada proporción de casos en los que nos se obtiene ningún microorganismo, son muy posiblemente el reflejo de las limitaciones de los métodos microbiológicos empleados en los distintos estudios.

Los microorganismos pueden alcanzar la prótesis sobre todo durante su implantación por contaminación con la microbiota de la piel del paciente, del personal que interviene en la cirugía o del ambiente del quirófano. En menor medida, las infecciones se pueden producir vía hematógena, por contigüidad desde un foco infeccioso adyacente (principalmente la infección de la herida quirúrgica) o por una infección preexistente en el hueso antes de la cirugía (*M. tuberculosis*).

En general, las infecciones precoces se adquieren durante la cirugía o por infección de la herida quirúrgica y suelen estar causadas sobre todo por microorganismos virulentos, como *S. aureus* y los bacilos gramnegativos. Las infecciones tardías aparecen principalmente por siembra hematógena, por contaminación durante la cirugía con microorganismos "poco virulentos" como *S. epidermidis* y estafilococococos coagulasa negativa, por inoculación mediante un procedimiento diagnóstico o por extensión desde un foco infeccioso adyacente. Pueden estar causadas por diferentes microorganismos como *S. aureus*, enterobacterias, enterococos y estreptococos en el caso de bacteriemia o por *S. epidermidis,* otros estafilococococos coagulasa negativa o *P. acnes* en el caso de otros orígenes.

La patogénesis de la infección de prótesis es un fenómeno complejo en el que intervienen principalmente tres elementos: el implante, el microorganismo y el paciente. La cirugía y la implantación de un cuerpo extraño dan lugar a cambios en los tejidos y a una disminución de la microcirculación, que disminuye su capacidad de defensa frente a la infección aunque esta se produzca a inóculos bajos, e impide una correcta llegada de los antibióticos.

En algunas ocasiones, los microorganismos que alcanzan la prótesis se desarrollan de forma organizada inmersos en una matriz extracelular compleja llamada biofilm, biopelícula o biocapa. En el interior de la biopelícula los microorganismos entran en un estado de latencia o de enlentecimiento metabólico, que les hace poco susceptibles a los antimicrobianos que actúan en las fases de crecimiento exponencial y a las defensas del huésped, lo que favorece su lenta proliferación. Estas biocapas suelen ser responsables de las recidivas después de retirar los antibióticos, de la aparición de infecciones tardías meses después de la cirugía, del fracaso del tratamiento antibiótico cuando no se retira la prótesis y de la dificultad de demostrar la infección en aspirados de líquido articular o cuando las muestras no se toman en la vecindad de la prótesis.

La formación de biopelículas o biofilms es característica de *S. aureus*, *S. epidermidis* y otros estafilococococos coagulasa negativa, aunque también puede aparecer en las infecciones por otras bacterias. La importancia de estás biocapas en el diagnóstico microbiológico de la IPA radica en que con métodos convencionales basados en el cultivo de líquido articular y biopsias periprótesicas pueden no detectarse los microorganismos adheridos al implante lo que hace necesario según diversos autores, introducir métodos de sonicación de la prótesis que permitan liberar los biofilms adheridos a ella antes de su cultivo.

4.1.5. Diagnóstico no microbiológico. Las manifestaciones clínicas con las que se puede presentar una IPA son muy variables lo que dificulta en gran medida su diagnóstico, que suele requerir de una completa evaluación clínica, una exploración física adecuada y en general un abordaje multidisciplinar, con la evaluación conjunta de estudios de imagen, de medicina nuclear, de parámetros bioquímicos como la VSG y PCR en suero, estudios histológicos de las muestras obtenidas del tejido periprotésico, recuento y fórmula leucocitaria del líquido articular y cultivos del líquido

y las muestras periprotésicas obtenidas mediante punción o cirugía, además del cultivo del propio implante.

El diagnóstico clínico de IPA sólo es de certeza si se observan fístulas que alcanzan el implante o si se demuestra pus a su alrededor mediante punción o apertura quirúrgica de la articulación.

Es fundamental intentar llegar a un diagnóstico prequirúrgico mediante estudios bioquímicos, de imagen y del análisis del líquido articular o biopsias sinoviales mediante cultivo, para establecer si la prótesis está infectada y el agente etiológico responsable y así poder considerar cuál será el tratamiento más adecuado tanto antibiótico como quirúrgico, si éste es necesario.

El líquido articular se puede obtener mediante punción directa en el caso de infección de prótesis de rodilla o por punción guiada con ecografía en el caso de localizaciones menos accesibles como la cadera. El líquido articular se debe cultivar siempre y se tiene que determinar la cantidad y porcentaje de leucocitos. En ocasiones, es necesaria la obtención de muestras de tejido sinovial que parece tener más rentabilidad que el cultivo del líquido articular. Si existen colecciones o abscesos periprótesicos también se deben tomar muestras para cultivo.

Si es necesaria la cirugía de revisión de la prótesis, en el quirófano se deben tomar varias muestras de biopsias periprotésicas que se enviarán al laboratorio de microbiología para tinción de Gram y cultivo y al laboratorio de anatomía patológica para detectar la presencia de inflamación aguda, que puede indicar infección. En muchas ocasiones, los estudios que se realizan antes de la cirugía de revisión de la artroplastia no son concluyentes y el diagnóstico de infección se establece durante la cirugía por visualización de pus en torno a la prótesis o después de la cirugía considerando los resultados microbiológicos y anatomo-patológicos obtenidos en los estudios realizados de las muestras quirúrgicas.

A continuación, se revisa brevemente la utilidad de cada uno de los estudios que se pueden realizar para llegar al diagnóstico de una IPA:

Determinación de la velocidad de eritosedimentación globular (VSG) y proteína C reactiva en suero: son parámetros que suelen estar elevados en casos de IPA, pero son poco específicos. No sirven para el diagnóstico de infecciones precoces, ya que se suelen mantener elevados durante semanas después de la cirugía. La PCR es algo más específica que la VSG. Su utilidad principal está en el diagnóstico de IPA tardía de modo que, si están dentro de rangos normales, es poco probable el diagnóstico de infección. Las enfermedades inflamatorias crónicas pueden causar falsos positivos. La utilidad de la determinación de niveles de la procalcitonina e IL-6 no se ha estudiado suficientemente en IPA.

Recuento de leucocitos y fórmula en líquido articular: es quizás el mejor método para diferenciar una complicación aséptica de una IPA. Se ha establecido que recuentos de leucocitos superiores a 1.700/µl o más de 65% de polimorfonucleares tienen una sensibilidad del 94% y 97% respectivamente y una especificidad del 88% y 98%. Estas cifras son inferiores que los recuentos considerados en el diagnóstico de artritis séptica. Estos valores se han evaluado sólo en IPA de rodilla y no se conoce bien si son aplicables para otro tipo de localizaciones o cuando el paciente tiene enfermedades inflamatorias de base.

Estudios de imagen: la radiografía simple no es de mucha ayuda en los primeros meses tras la cirugía, pero posteriormente puede ayudar a ver modificaciones en la interfase cemento-hueso, osteolisis periprotésica y modificaciones del implante. Sin embargo, es difícil diferenciar estas modificaciones de las que se producen en la movilización aséptica. El TAC suele usarse en ocasiones para guiar punciones complejas de la articulación y la RMN permite visualizar con detalle los tejidos blandos que rodean a la prótesis. Sin embargo, son técnicas poco usadas al ser caras y tener muchas interferencias producidas por el metal de los implantes. La ecografía es muy útil para detectar colecciones periprotésicas y para guiar la punción de la articulación. La tomografía de emisión de positrones (PET) ha sido muy poco evaluada en IPA.

Estudios de medicina nuclear: las técnicas que han demostrado mayor utilidad son la gammagrafía con leucocitos marcados con Indio 111 y la gammagrafía con Tecnecio 99m con coloide de sulfuro BMS realizadas conjuntamente. Sin embargo, pueden presentar falsos positivos y negativos que hacen que su utilidad diagnóstica sea todavía limitada. Se están evaluando nuevas técnicas que emplean anticuerpos antigranulocitos marcados que podrían ser útiles en el diagnóstico de IPA.

Estudios de histopatología: la detección de inflamación aguda en estudios histopatológicos de las muestras de biopsias periprotésicas tomadas durante la cirugía de revisión de la prótesis han demostrado sensibilidades del 67-80% y especificidades de alrededor del 90%. Los distintos estudios consideran distintos recuentos de leucocitos polimorfonucleares en los tejidos, para definir la existencia de inflamación aguda. En general, se acepta entre 5-10 leucocitos/campo de gran aumento (400x) en al menos 10 campos. Esta técnica tiene la ventaja de ser la única que puede proporcionar un diagnóstico rápido intraquirúrgico, cuando se realiza en biopsias intraoperatorias congeladas, pero tiene el inconveniente de ser poco valorable en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas.

En las infecciones precoces la exploración física del paciente es la que suele hacer sospechar que la prótesis está infectada, ya que los síntomas que hacen pensar en infección (supuración de la herida quirúrgica con celulitis y fiebre) suelen aparecer de forma aguda. En estos casos, es fundamental el estudio del líquido articular mediante recuento y fórmula leucocitaria y su cultivo, así como el de

tejidos o colecciones obtenidos por punción, ya que tanto los estudios de imagen como la PCR en suero suelen estar alterados por los cambios producidos por la cirugía.

En el caso de las infecciones tardías el diagnóstico normalmente es más complejo, ya que los síntomas que suelen presentarse como dolor, inestabilidad o hematomas también pueden deberse a complicaciones no infecciosas (metalosis, movilización aséptica, etc). En este tipo de infecciones suelen estar elevadas la VSG y la PCR (si existen enfermedades inflamatorias crónicas su utilidad es mucho menor) y se debe realizar una evaluación conjunta de los resultados obtenidos en todas las pruebas. Como en las infecciones agudas, el recuento y la fórmula leucocitaria del líquido articular es útil en pacientes que no tienen enfermedades inflamatorias de base.

Considerando lo anteriormente expuesto algunos autores han propuesto los siguientes criterios para definir una IPA en la cirugía de revisión de una artroplastia: presencia de pus alrededor de la prótesis, inflamación aguda detectada por estudios histológicos en muestras de biopsias periprotésicas, presencia de una fístula que llega hasta la prótesis o el crecimiento del mismo microrganismo (biotipo y perfil de sensibilidad o antibiotipo) en más de dos cultivos de líquido articular o biopsias periprotésicas.

Por el momento no existen criterios estandarizados y universalmente aceptados que ayuden a definir una IPA y a diferenciarla de una movilización aséptica y no hay, ninguna prueba con suficiente sensibilidad y especificidad para su diagnóstico. Hay que destacar que es muy importante realizar un diagnóstico adecuado y temprano, con los mayores intentos de establecer un diagnóstico etiológico prequirúrgico, que permita instaurar un tratamiento antibiótico precoz y decidir el tratamiento quirúrgico más adecuado para minimizar las complicaciones asociadas a un diagnóstico tardío. Escapa al objetivo de este procedimiento realizar una revisión del diagnóstico clínico y del tratamiento de las IPA. Para un mayor conocimiento en este sentido se pueden consultar diferentes revisiones que se detallan en el apartado de bibliografía.

4.1.6. Diagnóstico microbiológico. El diagnóstico etiológico y los patrones de sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos causantes de una IPA constituyen el pilar fundamental para establecer un tratamiento antibiótico adecuado y ayudar a considerar si el tratamiento se realizará sólo con antibioterapia, con antibioterapia y desbridamiento o se seguirá además del tratamiento antibiótico un abordaje quirúrgico para la retirada del implante en uno o dos tiempos.

Hasta el momento, no hay métodos microbiológicos de referencia establecidos, ni recomendaciones concretas sobre las muestras que se deben obtener. El diagnóstico microbiológico de una IPA se basa en el cultivo en medios convencionales sólidos y líquidos (de enriquecimiento) de muestras de líquido articular y biopsias periprotésicas obtenidas mediante artrocentesis o durante la cirugía de revisión de la prótesis.

Es necesario tener en cuenta, que es muy importante realizar una cuidadosa interpretación de los resultados microbiológicos y considerar que muchos de los microorganismos que son causantes habituales de IPA son con frecuencia contaminantes de la toma y procesamiento de las muestras (estafilococos coagulasa negativa, *S. epidermidis*, *P. acnes*, *Streptococcus* del grupo *viridans,* etc.). Además, hay que tener en cuenta que las IPA pueden cursar con una baja carga de microorganismos, lo que hace necesario el empleo de medios de enriquecimiento e incubación prolongada que eviten la obtención de falsos negativos, lo que incrementa también la proporción de aislamiento de contaminantes y hace difícil la interpretación de los resultados de los cultivos.

Una vez que se sospecha de una IPA, se debe intentar llegar a un diagnóstico etiológico prequirúrgico que permita la selección más adecuada de tratamiento antibiótico, el abordaje quirúrgico (recambio en uno o dos tiempos) y la elección de los implantes a usar (empleo de cementos, espaciadores o bolas impregnados de antibióticos).

En todos los casos en los que se considere la posibilidad de una IPA, se deben obtener muestras de líquido articular y en ocasiones biopsias de tejido sinovial, colecciones o abscesos periprotésicos, que pueden ser obtenidas por punción directa o bajo control radiológico o ecográfico (sobre todo en el caso de IPA de cadera que es menos accesible).

Si es necesaria la revisión de la prótesis mediante cirugía, se ha recomendado la toma de varias biopsias periprotésicas de las zonas en las que el traumatólogo considere macroscópicamente que está localizada la infección y siguiendo un protocolo preestablecido que tome muestras de varias localizaciones en torno a la prótesis, ya que la infección suele tener una disposición parcheada y estar adherida al implante. Se deben tomar muestras del espacio articular aspirando líquido y tomando biopsias de tejido sinovial antes de abrir la articulación. Si sólo se realiza un desbridamiento, se deben tomar varias muestras en torno a la prótesis y si se recambia algún tipo de material de la prótesis (por ejemplo el polietileno en las prótesis de rodilla) se debe enviar para su cultivo. Si se hace un recambio total de la prótesis además, se deben tomar biopsias de la interfase entre el cemento y el hueso tanto de los componentes femorales como tibiales en prótesis de rodilla y de los componentes femorales y cotiloideos en prótesis de cadera. También se deben tomar biopsias de las cavidades endomedulares al retirar el implante y muestras de cualquier tipo de exudado que rodee a la prótesis, mediante aspiración evitando el uso de torundas ya que inhiben algunos microorganismos, no permiten el cultivo de anaerobios, recogen menos cantidad de muestra y favorecen la contaminación. Si se retira el

implante o alguno de sus componentes se debe procesar para su cultivo.

Las muestras recogidas se deben enviar con rapidez al laboratorio de anatomía patológica para un completo estudio histológico y por supuesto al laboratorio de microbiología para tinción de Gram y cultivo. Los únicos métodos rápidos de diagnóstico de IPA que pueden ayudar al cirujano a decidir si la prótesis está infectada o no son el estudio histológico realizado sobre muestras congeladas y la tinción de Gram del líquido articular y las biopsias periprotésicas obtenidas durante la cirugía.

A continuación se resume la utilidad de las distintas técnicas microbiológicas que se pueden realizar para abordar el diagnóstico microbiológico de una IPA:

- Tinción de Gram

La tinción de Gram del líquido articular es poco sensible a la hora de detectar los microorganismos causantes de IPA (sensibilidad alrededor del 25%) y sólo es útil cuando es positiva, ya que tiene alta especificidad (88-97%). La tinción de Gram de biopsias periprotésicas tomadas durante la cirugía, tiene aún menor sensibilidad (0-23%), aunque su especificidad también es muy alta (98%-100%). La tinción de Gram es el único método microbiológico de diagnóstico rápido intraoperatorio de las IPA y aunque algunos autores no recomiendan su utilización sistemática al ser de poca utilidad diagnóstica, puede ser útil como método de diagnóstico intraoperatorio cuando es positiva, sobre todo considerando su facilidad de realización.

- Cultivo de líquido articular

El líquido articular debe enviarse siempre para tinción de Gram, cultivo y recuento leucocitario y fórmula. Se deben realizar cultivos en medios sólidos convencionales para aerobios y anaerobios y emplear caldos de enriquecimiento que se incubarán al menos 7 días. La sensibilidad del cultivo para el diagnóstico etiológico de IPA varía entre el 45-100% en diferentes estudios según el estándar diagnóstico que se considere, aunque su especificidad suele ser es alta 94-97%. La rentabilidad del cultivo puede aumentar con una correcta selección de los pacientes que tienen más probabilidad de tener una IPA. Es muy importante obtener suficiente volumen de líquido articular, ya que en ocasiones la escasa cantidad de líquido analizada determina falsos negativos de los cultivos. Su inoculación en frascos de hemocultivos podría aumentar el rendimiento, aunque hay pocos datos en IPA, la mayoría de estudios se refieren a pacientes con artritis séptica. El cultivo de líquido articular suele tener mayor rentabilidad en las infecciones precoces que en las tardías, aunque hay pocos trabajos al respecto.

- Cultivos de exudados de fístulas y de la herida quirúrgica

El cultivo de exudados de tractos fistulosos y de exudados de la herida quirúrgica no tiene utilidad en el diagnóstico de IPA al no existir buena correlación entre los resultados de su cultivo y los obtenidos a partir de muestras quirúrgicas, de modo que los microorganismos que se aíslan representan la colonización microbiana de la piel circundante y del conducto de la fístula y en la mayoría de los casos no indican lo que ocurre en la región periprotésica. Algunos autores han destacado que sólo en el aislamiento de *S. aureus* puede tener un valor predictivo positivo adecuado para indicar infección, pero estos estudios se han realizado en casos de osteomielitis y hay pocos estudios referentes a infección de prótesis articular. Actualmente, no se recomienda el cultivo de exudados de fístulas, pero al ser una muestra fácil de obtener se sigue empleando. En caso de utilizarse, se deben obtener las muestras mediante la aspiración con aguja y hay que evitar la toma de exudados con torundas. Los resultados de los cultivos se deben interpretar con precaución.

- Hemocultivos

Las IPA no suelen ser bacteriémicas y por tanto la toma de hemocultivos tiene una utilidad muy limitada en su diagnóstico. Lógicamente, el hemocultivo es muy útil en pacientes portadores de prótesis que tienen una bacteriemia de otro origen que puede producir una siembra hematógena del implante.

- Cultivo de biopsias periprotésicas

Las muestras periprotésicas se deben enviar para tinción de Gram, cultivo convencional de microorganismos aerobios y anaerobios y al laboratorio de anatomía patológica para estudio de inflamación aguda de los tejidos.

Los resultados de los cultivos de este tipo de muestras se han considerado tradicionalmente el estándar de oro para el diagnóstico de la IPA. Sin embargo, hay que considerar que aunque su utilidad es clara, presentan un número no despreciable de falsos positivos y falsos negativos, que requieren que se haga una cuidadosa interpretación de los resultados de los cultivos y considerar que la negatividad de los cultivos no excluye la posibilidad de una IPA.

En distintos estudios se han descrito sensibilidades muy variables de entre el 65-94% para el diagnóstico de IPA dependiendo del estándar de comparación que se considere. Las especificidades descritas son altas (97-100%) y dependen sobre todo de si se considera como diagnóstico el crecimiento de un microorganismo en el cultivo de una única muestra, de un paciente con sospecha de IPA o se necesita aislar el mismo microorganismo en varias muestras.

En este sentido, un trabajo realizado por Atkins y cols demuestra, mediante el diseño de un modelo matemático, que el aislamiento del mismo microorganismo (considerando biotipo y)

en 3 o más muestras de biopsias periprotésicas mejora la sensibilidad y el valor predictivo positivo de los resultados de los cultivos, siempre que se hayan cultivado al menos de 5-6 biopsias obtenidas durante la cirugía de revisión de prótesis. Este estudio se considera actualmente como estándar para la interpretación de los cultivos de biopsias periprotésicas.

- Implantes

Si se retira el implante, se debe enviar también al laboratorio de microbiología para su cultivo. No hay recomendaciones claras sobre como realizar el cultivo de prótesis e implantes de osteosíntesis. Los últimos trabajos publicados han demostrado la utilidad de la sonicación y posterior siembra del sonicado, para aumentar el rendimiento de los cultivos al liberar el biofilm que recubre el implante. La ventaja de cultivar el implante es que se muestrea directamente el lugar de la infección. Como principal inconveniente de este método está la facilidad de contaminación, que muchas veces está causada por su difícil manejo, al ser implantes de tamaño considerable. La interpretación de los resultados de los cultivos debe ser cuidadosa y realizarse considerando los resultados obtenidos para el resto de muestras. Estos métodos se revisan en el apartado 6 de este Procedimiento.

En todos los casos (excepto en los exudados de fístulas) se deben sembrar las muestras en medios sólidos convencionales para microorganismos aerobios y anaerobios incubándolos en la atmósfera adecuada y también medios de enriquecimiento que permitan recuperar microorganismos que se presenten con inóculos bajos. El empleo de medios para hongos o micobacterias, se debe realizar si existe sospecha clínica al respecto, ya que son raras las IPA causadas por estos microorganismos.

<u>Limitaciones y ventajas de los métodos basados en cultivo:</u>

Los métodos microbiológicos convencionales tienen como ventajas principales su facilidad de realización, su bajo coste y sobre todo que son los únicos que pueden establecer el diagnóstico etiológico de una IPA y determinar los patrones de sensibilidad de los microorganismos aislados. Sin embargo, para la correcta interpretación de los resultados que proporcionan hay que tener en cuenta que tienen algunas limitaciones que se deben considerar:

- La tinción de Gram es hasta el momento la única técnica que puede aportar un diagnóstico microbiológico rápido, pero tiene muy baja sensibilidad.
- Los métodos basados en cultivo, requieren 2, 3 o más días para el aislamiento del agente causante del proceso, su identificación y determinación de su sensibilidad a los antibióticos, lo que en muchas ocasiones retrasa en gran medida el comienzo de un tratamiento médico o quirúrgico optimizado.
- Las contaminaciones del cultivo suelen ser frecuentes sobre todo cuando se emplean medios líquidos de enriquecimiento que se incuban largo tiempo. La contaminación puede proceder de la toma de muestra al entrar en contacto con microorganismos de la piel del paciente, de la incorrecta manipulación de las muestras en el quirófano o del procesamiento en el laboratorio. Estas contaminaciones dificultan la correcta interpretación de los resultados de los cultivos, sobre todo cuando se aíslan microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel y que también pueden causar IPA (*S. epidermidis,* otros estafilococos coagulasa negativa*, P. acnes,* etc). Para reducir las contaminaciones se deben emplear quirófanos dotados de flujo laminar, las muestras se deben manipular lo menos posible y se deben enviar rápidamente al laboratorio para su procesamiento. Además, es conveniente recordar a los traumatólogos, la utilidad del empleo de bisturíes diferentes para obtener cada una de las muestras que se van a enviar a cultivo.
- Los cultivos pueden ser negativos en pacientes con IPA a pesar del empleo de métodos diagnósticos correctos. Se ha descrito que hasta en un 11% de casos de prótesis articulares infectadas el cultivo es negativo lo que puede deberse al tratamiento antibiótico previo de los pacientes, al escaso número de microorganismos en la muestra, a errores de localización de la zona de la infección, a la incorrecta elección de medios de cultivo y manejo de la muestra (por ejemplo: con microorganismos anaerobios) o a la presencia de microorganismos de lento crecimiento o requerimientos nutricionales específicos (estreptococcos nutricionalmente deficientes de los géneros *Abiotrophia y Granulicatella*, *S. aureus* del tipo "*small colony variants*" con deficiencias metabólicas y lento crecimiento, micobacterias, hongos, etc). Para evitar los falsos negativos se deben emplear medios líquidos de enriquecimiento que se deben incubar al menos 7 días.

Para evitar los falsos negativos del cultivo se recomienda además interrumpir el tratamiento antibiótico hasta 15 días antes de la cirugía cuando sea posible y retrasar la profilaxis antibiótica quirúrgica hasta que se han obtenido las muestras que se van a enviar a cultivo.

El correcto diagnóstico microbiológico de las IPA requiere de una comunicación fluida entre microbiólogos, infectólogos y traumatólogos, para realizar una correcta obtención, manipulación de las muestras e interpretación de los resultados microbiológicos. En este sentido, en algunos hospitales se han creado grupos multidisciplinares para el manejo de este tipo de infecciones.

4.2. INFECCIÓN ASOCIADA CON MATERIAL DE OSTEOSÍNTESIS

4.2.1. Introducción. El creciente uso de diversos tipos de implantes para diversos tratamientos en cirugía osteoarticular ha revolucionado de forma considerable el tratamiento de múltiples enfermedades, disminuyendo de forma ostensible la morbimortalidad de estos enfermos. Sin embargo, el uso de biomateriales en la práctica médica no está exento de inconvenientes. En este sentido, la aparición de cuadros infecciosos relacionados con estos materiales es un hecho ampliamente conocido, con riesgos variables en función del tipo de prótesis y cirugía empleada.

En el caso concreto del tratamiento de fracturas, el empleo de diverso material de osteosíntesis (placas, tornillos, clavos, fijadores externos) ha supuesto un avance tal en el tratamiento de fracturas que hoy en día no se concibe el mismo sin el empleo de dichos implantes. Sin embargo, el empleo de estos implantes también presenta riesgo de infección. Dicho riesgo es variable en función del tipo de fractura y del tipo de cirugía, siendo mayor en fracturas abiertas (tipo IIIb de Gustilo, 12,5%) y menor en procedimientos cerrados (1,8%). Los porcentajes también varían en función del tipo de tratamiento empleado siendo inferiores las tasas de infección superficial en aquellos pacientes en que se emplean de entrada clavos intramedulares con respecto a los tratados inicialmente con fijación externa, si bien los porcentajes se igualan en cuanto a infecciones profundas. Globalmente, se puede considerar que el riesgo de infección asociada al material de osteosíntesis varía entre 3-25 % de los casos, dependiendo del tipo de fractura, el grado de contaminación, la cantidad de daño tisular concomitante y la administración de antibióticos locales y/o sistémicos.

4.2.2. Epidemiología y etiología. Los microorganismos responsables de la infección profunda se correlacionan en un 25% con los presentes en el momento de la reducción de la fractura. Globalmente, suelen ser comensales habituales de la piel (*Staphylococcus spp.*), pero también pueden aparecer microorganismos procedentes del medio ambiente (fundamentalmente del suelo), en particular en fracturas abiertas. En aquellos casos que requieren reintervenciones y/o ingresos prolongados pueden aparecer patógenos nosocomiales, como es el caso de SARM, *P. aeruginosa* o *Acinetobacter sp.* Es de destacar la elevada frecuencia de infecciones polimicrobianas en comparación con las infecciones asociadas a prótesis osteoarticulares.

4.2.3. Patogenia. La patogenia de estos cuadros, es muy similar a la de cualquier infección relacionada con implantes. Una vez colocados éstos, se inicia lo que Gristina denominó la “carrera hacia la superficie” (*race for the surface*). De acuerdo con esta hipótesis se establece una competición entre las células del huésped y los microorganismos para determinar cual de los dos grupos colonizará la superficie del implante. Si las células “ganan” la carrera, se produce la fijación del implante al tejido óseo, mientras que si son las bacterias las primeras en adherirse, desarrollarán una biopelícula que dificultará la colonización por parte de las células y con ello, la integración del implante.

El concepto de biopelícula, por ello, es fundamental en la patogenia de la infección relacionada con el implante. Una biopelícula es una comunidad multicelular compuesta de células procariotas y/o eucariotas incluidas en una matriz compuesta, al menos parcialmente, por material sintetizado por las células sesiles de la comunidad.

El proceso de formación de una biopelícula comienza con la adherencia de la bacteria a la superficie del material. Éste es un proceso complejo en el que se pueden diferenciarse dos fases. En una primera, se establece la adherencia al material como un proceso reversible en el que están implicadas fuerzas de atracción de carácter físico, tales como la hidrofobicidad, atracción electrostática, fuerza de la gravedad, etc. Tras esta fase inicial, tiene lugar una segunda fase de carácter químico en la que se establecen enlaces covalentes entre moléculas del microorganismo y de la superficie. Hay que tener en cuanta, además, que el material implantado en el cuerpo humano es recubierto de forma inmediata por una fina película de proteínas y otras moléculas químicas procedentes de la sangre, líquidos orgánicos y la matriz extracelular de los tejidos del propio paciente. Las bacterias poseen receptores específicos frente a algunas de dichas moléculas (como es el caso de *S. aureus* y el fibrinógeno), lo que facilitaría aun más el proceso de adherencia.

Con posterioridad al proceso de adherencia, las bacterias comienzan a multiplicarse, comenzando a fabricar la matriz extracelular. Ésta estará formada principalmente por agua y diversas sustancias, dependiendo de la bacteria o bacterias responsables de su síntesis, incluyendo glicopolisacárido, ADN, lípidos, etc. Al desarrollar la biopelícula, las células establecen un sistema de comunicación entre ellas denominado *quorum sensing*. Este sistema emplea diversas moléculas que actúan cuando el número de organismos presentes en la biopelícula alcance una concentración mínima. Las moléculas del sistema de *quorum sensing* actúan activando diversos genes. Esto permite a las células presentes en la biopelícula una especialización que da lugar al establecimiento en la biopelícula de diversas subpoblaciones con misiones distintas dentro de la misma. Toda ella, globalmente, se comportará así como una unidad pluricelular con unas características especiales, entre las que se encuentran la resistencia a los mecanismos de defensa del huésped y a los antibióticos, así como una importante tenacidad que hace difícil desprender dicha estructura de la base a la que se encuentra fijada, el implante en el caso de la infección osteoarticular.

Sin embargo, el desarrollo de la infección no depende sólo de las características de las bacterias, sino también del propio material y del paciente. La destrucción tisular asociada a la fractura y al procedimiento quirúrgico posterior altera

negativamente los mecanismos de defensa inmunes, lo que favorecería la contaminación bacteriana en los casos de gran afectación de los tejidos. En ese sentido, se ha demostrado la disminución de las tasas de infección asociada a una reducción precoz de la fractura, que minimizaría el problema de la afectación de partes blandas adyacentes. Además, las características del propio material pueden actuar asimismo disminuyendo la inmunidad local como consecuencia de la composición química del mismo, o favoreciendo la adherencia bacteriana debido al aumento en la superficie disponible para la misma (rugosidad, clavos huecos).

4.2.4. Manifestaciones clínicas. El cuadro clínico causado por la infección relacionada con materiales de osteosíntesis varía en función del material empleado. Clásicamente se suele presentar de forma precoz como una infección aguda de relacionada con la cirugía (en particular cuando se asocia a fijadores externos). En el caso de fijación intramedular, el cuadro clínico suele aparece varias semanas después de la fijación, y se manifiesta esencialmente como un fallo en la consolidación de la fractura o de la regeneración de los tejidos blandos relacionados. Los síntomas relacionados con inflamación, como es el caso de fiebre, escalofríos, eritema o edema locales suelen ser mucho más raros.

4.2.5. Diagnóstico microbiológico. Las implicaciones del desarrollo de la biopelícula en diversos aspectos del manejo de la infección relacionada con implantes osteoarticulares es de gran importancia. Desde el punto de vista del diagnóstico microbiológico, el problema radicaría en la necesidad de desprender y liberar las bacterias incluidas en la biopelícula para conseguir su detección posterior mediante técnicas microbiológicas. Para ello se han empleado diversos procedimientos, tales como el hisopado o el raspado del implante. Estas técnicas adolecen de falta de sensibilidad, debido a que es imposible obtener muestras de todo el implante mediante esta técnica. También se ha empleado la incubación de todo el implante en medios de cultivo líquidos. Sin embargo, esta técnica presenta el riesgo de contaminaciones durante la manipulación que pudiesen dar lugar a falsos positivos. Como las bacterias responsables de las infecciones se encuentran además dentro de las que con mayor frecuencia dan lugar a contaminaciones en el laboratorio (estafilococos coagulasa negativa, difteromorfos, *Propionibacterium* spp.), resultaría muy difícil determinar si el resultado del cultivo se debe a una contaminación o a la presencia de bacterias en el implante, al carecerse de una cuantificación de los organismos presentes.

La sonicación del implante se ha empleado previamente con buenos resultados en otros tipos de cuerpos extraños, como son los catéteres intravenosos. Esta técnica emplea ultrasonidos a baja frecuencia para despegar y disgregar la biopelícula, que sería posteriormente recuperada mediante distintos procedimientos. Existen varios estudios que han demostrado la utilidad de esta técnica para el diagnóstico de la infección relacionada con implantes osteoarticulares, aunque su empleo ha despertado nuevas cuestiones en relación con la interpretación de los hallazgos microbiológicos.

Sin embargo, la posibilidad de realizar el diagnóstico de esta forma está vinculada a la retirada del mismo en el acto quirúrgico, por lo que el diagnóstico etiológico de la infección previo a la cirugía se realizará mediante el cultivo de otras muestras. La sensibilidad de los hemocultivos es baja en las infecciones crónicas, dada la baja tasa de bacteriemias en las mismas.

En caso de poder disponer del implante, éste debería conservarse de forma estéril hasta su procesamiento en el laboratorio, empleando para ello bolsas o recipientes rígidos estériles. Las muestras se conservarán a 4ºC hasta su procesamiento, que debería ser llevado a cabo en menos de 24 horas.

Una vez recibido en el laboratorio, el implante deberá procesarse siempre de forma estéril, vigilando evitar la contaminación por la manipulación, dado que las bacterias responsables de la infección son, con frecuencia, miembros de la microbiota de la piel. En este sentido, se ha documentado un mayor riesgo de contaminaciones asociado al procesamiento de muestras en bolsas de material plástico. Sin embargo, el tamaño de alguno de los implantes empleados como material de osteosíntesis (en particular los clavos intramedulares, que pueden alcanzar tamaños superiores a los 40 cm.), dificulta (y en algún caso imposibilita) su procesamiento en contenedores rígidos. Puede minimizarse el riesgo de contaminación de las bolsas de plástico asegurándose de su hermeticidad antes de la sonicación, así como eliminando el agua del sonicador de baño después de cada procedimiento, lo que permitiría el empleo de estos sistemas cuando no pudiesen emplearse contenedores rígidos.

En caso de optarse por la sonicación de la muestra, la centrifugación del sonicado permitiría concentrar la muestra y aumentar la sensibilidad. Sin embargo, este procedimiento aumentaría la manipulación de la muestra, incrementando teóricamente el riesgo de contaminación de la misma. El estudio de Trampuz y cols. sobre prótesis osteoarticulares obtuvo una mayor sensibilidad de la sonicación sin necesidad de concentrar el sonicado, si bien el número de bacterias “atípicas” aumentó en otro estudio en el que sí se concentró la muestra.

El estudio microbiológico del implante deberá incluir siempre una tinción (Gram) para poder realizar un diagnóstico precoz, si bien la positividad de la misma depende de la cantidad de bacterias presentes, siendo positivo sólo cuando hay recuentos elevados. Hay que tener en cuenta en este caso que las muestras pueden mostrar una considerable cantidad de artefactos, en particular aquellas procedentes de materiales metálicos, que pudieran confundirse con bacterias grampositivas por parte de personal no experimentado.

El procesamiento de la muestra deberá incluir medios no selectivos para bacterias aerobias y

anaerobias. Asimismo, y dada la exclusividad de la muestra (y la imposibilidad de obtener nuevas muestras en el caso de los implantes retirados), deberán procesarse para aquellos patógenos que se han descrito como agentes causantes de infecciones relacionadas con cuerpos extraños, tales como hongos y micobacterias atípicas. La siembra de los distintos medios será cuantitativa, para valorar el significado de los aislamientos no sólo en función de la especie o especies detectadas, sino en función de su número. En este sentido, aunque un estudio reciente no ha demostrado diferencias significativas en el recuento bacteriano tras sonicación y concentración de diversos implantes, en un estudio posterior sí que se ha podido demostrar dicha diferencia en el procesamiento de material de osteosíntesis mediante sonicación (ver bibliografía; Esteban y cols, 2009).

El tiempo de incubación de los distintos medios dependerá de los patógenos buscados, no siendo en ningún caso inferior a 7 días para los medios de cultivo convencionales, y mayor para medios especiales destinados a patógenos de crecimiento lento. La incubación se debe realizar a 37ºC en atmósfera con 5% de CO_2 para los microorganismos aerobios y en atmósfera anaerobia para recuperar microorganismos anaerobios.

La interpretación de los resultados de los cultivos deberá hacerse teniendo en cuenta el cuadro clínico del paciente. En primer lugar, hay que tener en cuenta que el porcentaje de infecciones polimicrobianas en infecciones relacionadas con material de osteosíntesis es más elevado que en otro tipo de infecciones óseas, por lo que habrá que valorar los distintos organismos aislados en los cultivos, con especial importancia de los cultivos anaerobios. Además, los resultados cuantitativos pueden verse modificados por la existencia de tratamiento antibiótico previo. En general, puede interpretarse que, en ausencia de contaminaciones externas, los recuentos elevados de organismos se asociarán con la presencia de infección.

Las características del microorganismo aislado también son importantes. El aislamiento de un microorganismo con un elevado poder patógeno (*S. aureus*, *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*) deberá valorarse siempre como potencialmente responsable de infección, independientemente del recuento obtenido. Dicha valoración deberá, sin embargo, ser mucho más cuidadosa para aquellos organismos de escaso poder patógeno (como por ejemplo *Propionibacterium* spp.) o claramente ambientales, donde el aislamiento en cultivo de los mismos no necesariamente se asocia con el desarrollo de infección clínica. En estos casos, la integración de los datos microbiológicos con el cuadro clínico y otros datos de laboratorio o imagen es esencial para valorar su significado y decidir posterior tratamiento.

5. OTROS MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES OSTEOARTICULARES

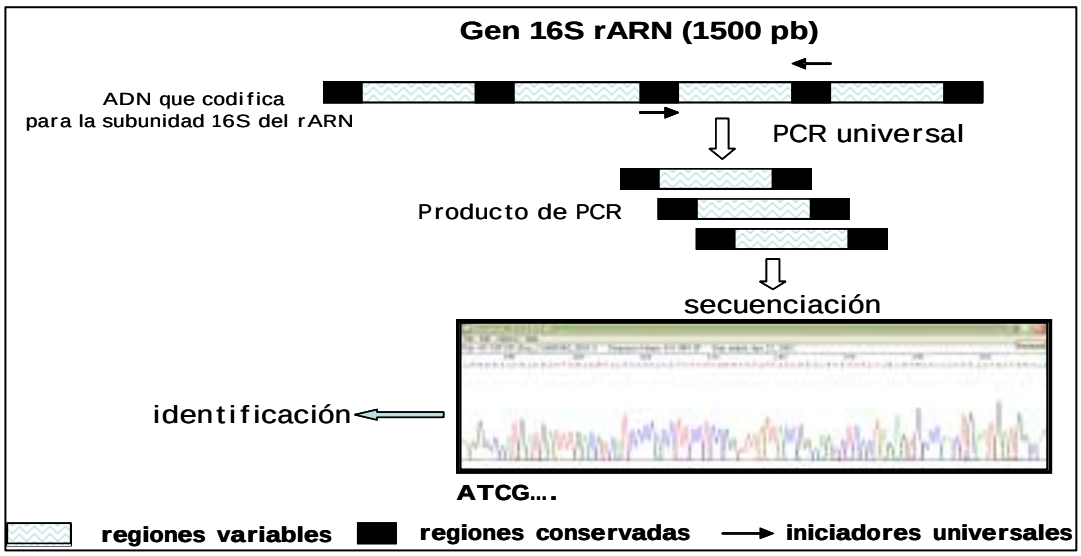
5.1. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR.

En los últimos años, se ha resaltado el papel que pueden jugar los métodos moleculares, sobre todo los basados en PCR (reacción en cadena de la polimerasa), en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, principalmente cuando se aplican directamente al análisis de muestras clínicas.

Los métodos moleculares permiten detectar el ADN o ARN del microorganismo causante de la infección directamente en la muestra clínica, con una gran sensibilidad y generalmente en un tiempo corto. Ell más utilizado es la PCR. A la hora de diseñar un método de PCR para el diagnóstico de una determinada infección se pueden seguir en general dos tipos de estrategias: Si se conoce que esa infección puede estar causada por un único microorganismo o se quiere descartar la infección por un microorganismo concreto se diseñará una PCR específica que detecte ese microorganismo. or el contrario la infección que se quiere diagnosticar puede estar causada por numerosos microorganismos diferentes se seguirá una estrategia de PCR multiplex o PCR universal que con una sola reacción de PCR detecte la mayoría de los microorganismos que pueden causar esa infección.

Como la mayor parte de las infecciones osteoarticulares están causadas por bacterias, en este procedimiento se considerarán principalmente los aspectos relacionados con técnicas basadas en PCR y aplicables al estudio de infecciones bacterianas.

Entre las diferentes aproximaciones moleculares que se han propuesto para detectar bacterias directamente en muestras de líquido articular o biopsias óseas, se ha destacado el papel de las técnicas de PCR universal del gen que codifica para el ARN ribosómico bacteriano (PCR 16S ARNr) ya que es un tipo de infección que puede estar causada por distintas bacterias. Este tipo de PCR se basa en la presencia en este gen, de regiones cuya secuencia está conservada en la mayoría de bacterias e intercaladas entre ellas regiones variables características de los distintos géneros y especies. Esta disposición favorece el diseño de iniciadores de PCR complementarios para las regiones conservadas, que mediante PCR amplifican las regiones variables características de cada especie, que luego por secuenciación y comparación con bases de datos de secuencias, permiten identificar la bacteria que se encuentra en la muestra. Todo ello sin tener ninguna información acerca de qué microorganismo es el causante de la infección (ver esquema a continuación):



En la incorporación de estos métodos al diagnóstico de las infecciones osteoarticulares hay que considerar una serie de limitaciones: 1) su facilidad de contaminación al detectar la presencia de ADN contaminante en los reactivos de PCR (principalmente la Taq polimerasa) y de conservación y procesamiento de muestras, lo que determina que no se puedan diseñar PCRs con una elevada sensibilidad analítica, ya que tendrían numerosos falsos positivos. 2) Al ser métodos basados en secuenciación los resultados se retrasan al menos 24-48 horas desde la obtención de la muestra clínica. 3) Son métodos relativamente caros y poco abordables para algunos laboratorios como método de rutina. 4) No permiten la detección de infecciones polimicrobianas que serían detectadas como una mezcla de secuencias. 5) La presencia de ADN no indica viabilidad de los microorganismos.

Por el contrario hay también que considerar las ventajas que aportan: 1) con una única reacción de PCR pueden detectar casi cualquier bacteria, sin conocer los datos clínico-epidemiológicos de cada caso. 2) Son fáciles de realizar en servicios de microbiología dotados de laboratorios de molecular. 3) Pueden detectar bacterias en muestras de pacientes con tratamiento antibiótico. 4) Pueden detectar microorganismos que no crecen en los métodos de cultivo habituales. 5) Pueden resultar más rápidos que la identificación tradicional para determinados microorganismos.

Considerando los inconvenientes que pueden tener las PCRs universales del gen 16S ARNr. Algunos autores prefieren emplear PCRs específicas para detectar microorganismos concretos (*S. aureus, Kingella kingae, M. tuberculosis, B. burgdorferi* , etc.) cuando hay algún dato clínico-epidemiológico que permita sospechar un microorganismo determinado como causante de una infección osteoarticular. Estas PCRs son en general más sensibles que las PCRs universales, pero sólo pueden detectar los microorganismos previamente sospechados.

La mayor aplicación de las técnicas de PCR para la detección de infecciones osteoarticulares se ha realizado en el diagnóstico de las infecciones no asociadas a implantes, principalmente de las artritis sépticas y osteomielitis causadas por microorganismos de crecimiento difícil. En este sentido, en el caso de las artritis sépticas existen numerosos estudios que emplean técnicas de PCR específicas para la identificación, a partir de líquido articular, de microorganismos de difícil aislamiento en cultivo como: *N. gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Borrelia burgdorferi* y *Tropheryma whipplei*. En el caso de las infecciones osteoarticulares causadas por micobacterias las técnicas moleculares que emplean PCRs específicas han demostrado su utilidad, principalmente en el diagnóstico rápido de tuberculosis osteoarticular, con una sensibilidad algo inferior que el cultivo, pero mayor rapidez.

En lo referente a infecciones asociadas a prótesis articulares, algunos autores han revisado recientemente la utilidad de la PCR universal, para resolver las limitaciones del diagnóstico microbiológico basado en cultivo. Aunque los primeros trabajos fueron publicados en 1995 y 1996, está por demostrar la utilidad de estos métodos en el diagnóstico diario al margen de trabajos de investigación, ya que los diferentes estudios utilizan distintos métodos de PCR universal y distintos patrones de referencia a la hora de considerar si una prótesis está infectada o no y por tanto no son comparables; además el número de muestras incluidas en los estudios suele ser bajo como para establecer conclusiones diagnósticas. Hasta el momento, los pocos artículos publicados reflejan en general, una mayor rentabilidad diagnóstica cuando los métodos moleculares se asocian al los cultivos tradicionales que cuando se emplean solos como métodos de cribado. En general, las técnicas de PCR universal del gen 16S ARNr son menos sensibles que el cultivo, excepto en el caso de pacientes con tratamiento antibiótico y en infecciones causadas por microorganismos

anaerobios y exigentes (*Abiotrophia, Granulicatella*, etc.). Por el contrario, son más específicas que el cultivo y ayudan a evaluar sus resultados, que en muchas ocasiones son difíciles de interpretar. Estos métodos se deben emplear en casos especiales, por ejemplo cuando tras 2 días de incubación no se obtiene crecimiento en los cultivos tradicionales en pacientes con una infección osteoarticular clara, o de entrada en pacientes con tratamiento antibiótico o cuando los resultados de los cultivos son difíciles de evaluar.

En un futuro próximo si estos métodos demuestran su utilidad, muy posiblemente no sustituyan al cultivo microbiológico tradicional, pero sí lo complementen mediante el diagnóstico rápido de la infección, la detección del microorganismo causante de la infección en pacientes tratados o permitiendo evaluar los falsos positivos o negativos del cultivo.

6. PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS

6.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

La obtención de una muestra de calidad es el paso inicial del que dependerá, en gran parte, la calidad de los resultados microbiológicos que se obtengan. A la hora de tomar y manipular las muestras deben seguirse las recomendaciones generales del Procedimiento 1a de la SEIMC sobre "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras".

Se consideran útiles para el diagnóstico de las distintas infecciones osteoarticulares las muestras de líquido articular, biopsias sinoviales, biopsias óseas periprotésicas, exudados periimplante, colecciones y abscesos localizados en tejidos blandos en la vecindad del hueso, así como los propios implantes. No se consideran muestras útiles los exudados de fístulas.

A la hora de obtener y conservar las muestras que se van a emplear en el diagnóstico de las infecciones osteoarticulares hay que hacer algunas consideraciones:

- Se debe evitar la recogida de muestras de líquido articular y exudados periimplante con torundas.
- En general, todas las muestras se deberían tomar antes del inicio del tratamiento antibiótico y si este ha comenzado se debería interrumpir (si es posible) 2 días antes de la toma de muestras y en el caso de las IPA hasta 15 días antes. Cuando las muestras se tomen durante una intervención quirúrgica que requiera profilaxis antibiótica, ésta se debe retrasar, en la medida de lo posible, hasta que se hayan tomado las muestras para cultivo.
- Las muestras se deben obtener en las mayores condiciones de asepsia posible, realizando una correcta desinfección de la piel y manipulándolas lo menos posible.
- Una vez obtenidas las muestras se introducirán en contenedores estériles con cierre hermético que sean apropiados a su tamaño y que permitan mantenerlas en condiciones adecuadas de humedad, sin añadir formol ni otros conservantes.
- En el caso de sospecha de infección por hongos o micobacterias no se deben introducir las muestras en medios de transporte para anaerobios.
- Dado que estas muestras suelen ser de extrema importancia, difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones son insustituibles, es recomendable que antes de iniciar el procedimiento se establezca contacto con el laboratorio de Microbiología, para evitar posibles errores y orientar las investigaciones posteriores en relación con las distintas sospechas clínicas.

Como primer paso, debe desinfectarse la piel. Limpiar la zona con alcohol, de forma concéntrica, comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm. Después repetir la operación con povidona iodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, en lugar de povidona se utilizará alcohol 2 veces consecutivas. Dejar secar al menos 1 minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica. Tras tener la zona desinfectada se procede a realizar una punción-aspiración de liquido articular o absceso con jeringa y aguja, preferiblemente a través de una zona sana de la piel.

Para las diferentes muestras, se seguirán las siguientes recomendaciones:

Líquido articular: La obtención del líquido sinovial se puede realizar por tres procedimientos: punción y aspiración con aguja (artrocentesis), drenaje por artroscopia, o artrotomía (drenaje quirúrgico abierto). La obtención de biopsias de la membrana sinovial se realiza por artroscopia u artrotomía. La artroscopia es el sistema de elección, siempre que sea posible. La artrocentesis es sencilla en el caso de las articulaciones periféricas, mientras que en las articulaciones profundas (cadera y el hombro) puede ser necesaria la obtención mediante guía radiológica, ecografía o realizar artrotomía.

El líquido sinovial se puede introducir directamente (el mayor volumen posible) en botellas de hemocultivo aerobio y anaerobio (tipo BACTEC por ejemplo), reteniendo una porción en la jeringa o inoculándola en un tubo estéril para realizar la tinción de Gram y la inoculación directa en medios de cultivo.

Los líquidos inflamatorios o hemorrágicos (opacos o de aspecto sanguinolento) pueden coagularse. Si se obtiene un volumen suficiente de líquido sinovial, se debe transferir al menos 1 ml en un tubo heparinizado o con EDTA para prevenir la coagulación y facilitar el recuento de leucocitos. Para el estudio microbiológico hay que evitar el uso de anticoagulantes, pero en caso de necesidad son preferibles la heparina sódica o el polianetolsulfonato sódico (SPS) al EDTA o al citrato.

Abscesos y exudados periimplante: Se considera absceso a toda lesión cerrada, de origen infeccioso, con contenido en su interior, que se manifiesta por la presencia de signos inflamatorios (dolor o aumento localizado de la sensibilidad, enrojecimiento, calor). En el caso de los abscesos

óseos cerrados pueden no existir signos externos y su punción debe ser guiada por una prueba de imagen. La muestra obtenida se debe inocular en un medio de transporte adecuado como son los recipientes con medio de transporte de anaerobios (tipo Portagerm o similar) o en un tubo estéril. Deberá enviarse un volumen de muestra de entre 1 y 5 mL. En el caso de muestras escasas se podrán enviar en la propia jeringa, con el aire extraído, sin aguja y convenientemente tapadas con tapón estéril.

Biopsias: Las muestras de biopsia ósea se pueden obtener de forma percutánea o mediante cirugía abierta. La biopsia abierta es preferible a la percutánea, que debe ser guiada por una técnica de imagen. Habitualmente será el traumatólogo quien obtenga la muestra de biopsia ósea.

En la biopsia percutánea se procederá como se describe en el caso del absceso óseo cerrado. En la biopsia abierta se obtendrá un bloque de tejido por escisión quirúrgica procurando incluir las zonas dónde sea más patente la presencia de infección. Cuando las lesiones estén bien delimitadas se intentará incluir el borde activo de la lesión. Se recomienda obtener una pieza de al menos 5-10 mm^3. Las muestras se introducirán rápidamente en recipientes estériles de tamaño adecuado, que se deben cerrar inmediatamente. Las biopsias se pueden sumergir en suero salino estéril recién abierto, para evitar su desecación.

Es recomendable el envío de más de 1 muestra, particularmente en las IPA se deben enviar entre 5-6 muestras como se describe en apartados anteriores de este procedimiento. Se debe recomendar al traumatólogo el empleo de diferentes bisturíes para cada muestra, para evitar las contaminaciones que dificulten la interpretación de los cultivos.

Implantes: Los implantes osteoarticulares se obtendrán en el quirófano empleando para ello los protocolos quirúrgicos pertinentes. Tras su extracción del paciente, el implante deberá ser manejado en el quirófano con las máximas condiciones de asepsia e introducido en contenedores o bolsas estériles que se cerrarán de la forma más hermética posible y se enviarán rápidamente al laboratorio de Microbiología con el resto de muestras del mismo paciente para su cultivo y sonicación, en caso de estar disponible. No se añadirá ningún medio de transporte ni conservante. Dada la dificultad de procesamiento y manejo de algunos implantes, es conveniente ponerse en contacto con el laboratorio de Microbiología antes de retirarlo.

6.2. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El envío de las muestras al laboratorio debe ser inmediato. El procesamiento de las muestras se realizará lo más brevemente posible y si se tiene que retrasar se deberán conservar las muestras refrigeradas entre 2-8ºC hasta su procesamiento, que no debe superar en ningún caso las 24 horas. En el caso de sospecha de infección por *N. gonorrhoeae*, las muestras se deben inocular inmediatamente en medios selectivos. Las muestras en medio de transporte de anaerobios se deben mantener a temperatura ambiente. En ningún caso se pueden congelar las muestras destinadas al cultivo.

6.3. RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO

El manejo de la muestra a su llegada al laboratorio, implica el cumplimiento de los requisitos de calidad de la muestra para ser procesada, como se indica en el Procedimiento de Microbiología Clínica de la SEIMC 1a: “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología”.

Deben cumplirse los siguientes requisitos:

a) La muestra se recibirá siempre acompañada de un volante de petición, en el que constarán al menos, los datos demográficos del paciente, servicio de ingreso, los datos del clínico que realiza la petición, tipo de muestra y método de obtención, motivo de la petición y determinaciones solicitadas.
b) La correcta identificación de la muestra y del paciente en el recipiente que contiene la muestra.
c) Al recibir la muestra el laboratorio hará una valoración de si la cantidad de muestra es adecuada para los estudios solicitados.
d) Se comprobará que el tiempo y las condiciones de transporte y conservación son adecuadas.
e) Se evaluará la conveniencia de las tinciones y cultivos solicitados.

Criterios de rechazo: Las discrepancias entre la identificación de la muestra y la identificación en el volante de petición serán motivo de rechazo, aunque se debe consultar previamente con el clínico responsable de la solicitud. Se rechazarán las muestras remitidas en formol o conservantes similares. Si se reciben muestras en torunda se añadirá a los resultados un comentario sobre sus limitaciones y las precauciones de interpretación de los resultados obtenidos. Si la muestra es insuficiente para todas las determinaciones solicitadas, se contactará con el clínico responsable de la petición para decidir cuáles son las más importantes y para las restantes, se indicará en el volante "muestra insuficiente".

Cada laboratorio debe elaborar y distribuir los criterios de rechazo de las muestras que incumplan los requisitos de calidad establecidos. Debe emitirse un informe escrito en el que se detallen los motivos de rechazo de la muestra.

6.4. PROCESAMIENTO

El pretratamiento de las muestras se recoge en la sección 7.2.1. del procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología" (PNT-RTP-01).

Las muestras deberán ser procesadas con la mayor brevedad posible en una cabina de

bioseguridad siguiendo las recomendaciones recogidas en el procedimiento 10 de la SEIMC "Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica".

En caso de sospecha de infección por hongos o micobacterias se seguirán las recomendaciones de los procedimientos 9a "Micobacterias" y 21 "Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudio de la sensibilidad a los antifúngicos".

El laboratorio someterá a la muestra a un procesamiento en función de sus protocolos de trabajo y de la información que aporta el servicio solicitante sobre la muestra y el enfermo. Por tanto, el procesamiento dependerá de varios factores:

- Petición del servicio solicitante
- Tipo de muestra/técnica de obtención
- Diagnóstico /enfermedad de base del paciente
- Motivo de petición
- Cualquier otra información aportada en el volante de la petición
- Según el tipo de infección y la muestra recibida el personal del laboratorio de Microbiología podrá completar los estudios solicitados, con las determinaciones que se consideren convenientes.

Es conveniente conservar una porción de las muestras que sobren, refrigeradas durante unos 7 días por si se necesitara realizar comprobaciones o estudios posteriores.

A todas las muestras se les realizará tinción de Gram. Para cada muestra específica se tendrán en cuenta las siguientes recomendaciones:

Líquido articular: Si se van a inocular botellas de hemocultivos (aerobio y anaerobio) tipo BACTEC o similar, se introducirá el mayor volumen de muestra posible, previa desinfección del tapón. La inoculación puede realizarse directamente por el clínico o alternativamente en el laboratorio, siempre que se disponga de un volumen suficiente de muestra. Se debe dejar una alícuota suficiente para realizar tinciones.

Las muestras de líquido articular se deben centrifugar, cuando el volumen recibido lo permita, para realizar extensiones para tinciones de Gram, Ziehl-Neelsen, etc. y para la inoculación en los medios de cultivo a partir del sedimento.

Biopsias: Las muestras de biopsias se deben cortar en trozos en una placa de Petri estéril con un bisturí estéril. Los distintos fragmentos se deben homogenizar en un mortero estéril con una pequeña cantidad de solución salina o caldo BHI antes de su siembra en los medios de cultivo. En el caso de sospecha de infección por hongos filamentosos no se deben triturar las muestras, se deben cortar en pequeños fragmentos que se colocarán directamente en los medios de cultivo para hongos. Las extensiones para tinciones pueden realizarse mediante impronta sobre el porta o bien a partir de la muestra homogeneizada.

La siembra se realizará con un asa estéril ó pipeta estéril, pasando 0,1 mL del homogenizado a la placa de cultivo en un cuadrante de la misma. A continuación se extenderá con el asa de cultivo a través de toda la placa en los tres cuadrantes restantes. Este procedimiento se realiza igual para todas las placas utilizadas en el cultivo. Los medios líquidos se siembran con pipeta. Se colocará una gota del homogeneizado en un porta para la tinción de Gram.

Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento. Las muestras de biopsias óseas duras que no se puedan fragmentar se añadirán directamente en un caldo de enriquecimiento. Para realizar las extensiones para tinción de este tipo de muestras, se puede procesar la muestra entre dos portas presionando y desplazando ambos entre sí hasta conseguir una extensión fina.

Abscesos y muestras fluidas: Al ser muestras líquidas se inocularán 0,1 mL con pipeta en los medios sólidos y líquidos como se describe en el apartado anterior. En caso de no poder recogerse con pipeta, la inoculación se hará con asa de siembra como se describe para las biopsias. Si se reciben recipientes para anaerobios que estén cerrados herméticamente, la muestra se extraerá con jeringa previa desinfección del tapón con povidona iodada. Se deberá tener la precaución de no introducir aire en el recipiente. La muestra se puede sembrar con la propia jeringa. Para realizar la tinción de Gram se depositará una alícuota en un porta con pipeta o asa de siembra.

Implantes: Se añadirá en el contenedor o la bolsa en el que se recibe, una cantidad variable de tampón PBS estéril, nunca superior a 400 mL ni inferior a 50 mL. Tras añadir el tampón, el recipiente se cerrará herméticamente y se introducirán en un sonicador de baño en el que se habrá añadido agua destilada estéril suficiente para cubrirlo, sin que éste llegue a flotar. Una vez introducido, se sonicará la muestra a 40kHz durante 5 minutos. Tras retirar la muestra, se centrifugará el sonicado a 3000 x g durante 20 minutos. Posteriormente, se decantará el sobrenadante, y el sedimento se resuspenderá en 1/10 del volumen centrifugado de PBS estéril. Una vez resuspendido, se procederá a la siembra del mismo de forma cuantitativa (ver PNT-IOA-04 de este procedimiento).

6.5. MEDIOS DE CULTIVO Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN

En general se seguirán las recomendaciones recogidas en el procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología" (PNT-RTP-01). En resumen:

Medios de cultivo: La inoculación directa de las muestras de líquido sinovial, homogeneizados de biopsias y exudados debe realizarse en medios convencionales para bacterias aerobias (agar sangre, agar chocolate), medio para cultivo de bacterias anaerobias (agar Brucella o agar Schaedler) y medio selectivo para aislamiento de bacilos Gram negativos (agar McConkey o similar) y si se considera necesario y hay muestra suficiente se sembrará también medio selectivo

para estreptococos (agar sangre ácido nalidíxico, CNA). Además se inoculará un medio líquido de enriquecimiento tipo caldo BHI, TSB o tioglicolato.

Las botellas de hemocultivos se introducirán en el sistema automatizado del que disponga cada laboratorio.

Para el cultivo de *N. gonorroheae*, se inoculará una placa de medio Thayer-Martin y se incubará en atmósfera con 5% de CO_2.

Condiciones de incubación: Las placas de agar sangre se incubarán a 35-37ºC en aire o atmósfera con 5% de CO_2. Las placas de agar chocolate y CNA se incubarán también a 35-37ºC siempre con atmósfera de 5% de CO_2. Las placas de agar Brucella y agar Schaedler para el cultivo de anaerobios se incubarán a 35-37ºC en atmósfera de anaerobiosis.

Los caldos se incubarán a 35-37ºC en aire. Se comprobará diariamente el crecimiento de microorganismos mediante visualización de turbidez, y en caso de que este aparezca se realizará subcultivo en los medios sólidos descritos previamente.

El tiempo de incubación de las placas será de 2-7 días y el de las botellas de hemocultivo y los caldos de enriquecimiento de 7-10 días. En caso de sospecha de microorganismos de crecimiento lento (*Brucella* spp. o micobacterias), este período se alargará convenientemente.

6.6. PRECAUCIONES E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La interpretación de los resultados microbiológicos comienza con la evaluación de la tinción de Gram y después tras la incubación de durante las primeras 24h, se procede a la valoración de los aislamientos en los medios de cultivo.

Tinción de Gram: Dado que todas las muestras que se procesan para el diagnóstico de la infección osteoarticular proceden de sitios normalmente estériles se debe dar valor a cualquier microorganismo que se visualice en la tinción de Gram.

Se debe visualizar la extensión completa ya que en este tipo de infecciones los microorganismos suelen estar en cantidades bajas.

Si se visualizan microorganismos que se considera que no pueden crecer en los medios habituales, se añadirán los medios de cultivo adecuados para su crecimiento. Se valorará la presencia de leucocitos polimorfonucleares que indican la presencia de reacción inflamatoria.

Cultivos: Las placas y los medios líquidos serán examinados diariamente para detectar la presencia de crecimiento. La primera lectura de las placas se hará a las 24 horas de incubación. Los medios líquidos se examinarán diariamente para ver si existe turbidez indicativa de crecimiento.

Si se observa crecimiento en los medios sólidos, se intentará realizar una identificación presuntiva del microorganismo aislado mediante tinción de Gram, catalasa, coagulasa en porta, etc. y si se considera relevante se avisará al clínico del hallazgo. En infecciones osteoarticulares es muy importante una evaluación minuciosa de los cultivos, buscando diferentes morfotipos, sobre todo en el caso del aislamiento de posibles contaminantes de la piel (*S. epidemidis*, otros estafilococos coagulasa negativa, etc.). Si se obtienen cultivos mixtos se realizarán los subcultivos necesarios para obtener los microorganismos en cultivo puro. Si no hay crecimiento se reincubarán todas las placas.

En los líquidos articulares y otras muestras de pacientes con implantes se debe valorar como significativos los aislados de microorganismos que en otras circunstancias se considerarían como microbiota normal de la piel (*S. epidermidis*, otros estafilococos coagulasa negativa, *Corynebacterium* spp., *P. acnes*, *Streptococcus* del grupo *viridans*, etc). En otro tipo de muestras se deben considerar como causantes de la infección si se aíslan en cultivo puro. La interpretación de su papel en la infección dependerá en gran medida, de los resultados de otras muestras del mismo paciente.

Tanto si hay crecimiento en las placas de cultivo primario como si no y si el caldo de enriquecimiento está turbio, se realizará tinción de Gram y según los microorganismos que se observen se realizarán subcultivos en los medios generales y selectivos adecuados para su aislamiento. Cuando las muestras se han inoculado sólo en caldos de enriquecimiento, es conveniente realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo “de salida” en medios sólidos, aunque no se haya observado turbidez. En la valoración de los cultivos negativos se debe tener en cuenta la posibilidad de que el paciente haya recibido tratamiento antibiótico previo a la obtención de la muestra.

Se identificarán todos los aislados y se realizarán las pruebas de sensibilidad a los antibióticos según los medios disponibles en cada laboratorio. En los microorganismos anaerobios no suele estar recomendada la realización de pruebas de sensibilidad a todos los aislados. Si se registra crecimiento de aparentemente el mismo microorganismo en distintas muestras del mismo paciente, se realizará la identificación y pruebas de sensibilidad a todos ellos, para facilitar la interpretación del papel de los microorganismos aislados en la infección como se ha comentado anteriormente.

Los cultivos de los implantes se interpretarán como se detalla en el PNT-IOA-04 de este procedimiento.

Se recomienda guardar las placas de la siembra directa hasta que se tengan los resultados definitivos del cultivo, por si fuera necesario realizar pruebas adicionales.

Se deben realizar los procedimientos microbiológicos que proporcionen la información clínica más relevante en el menor tiempo posible. La profundidad de la investigación microbiológica viene determinada por la procedencia anatómica de la muestra, la técnica de recogida de la misma y los resultados de la tinción de Gram. También es

importante el tipo de enfermo y sus enfermedades de base.

6.7. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Las tinciones de Gram se visualizarán e informarán lo más rápidamente posible y siempre en el turno de trabajo de recepción de la muestra. Si son muestras intraoperatorias se deben informar con carácter urgente.

Se informarán todos los microorganismos presentes en la tinción de Gram, siempre que las muestras hayan sido recogidas y conservadas convenientemente. La presencia de leucocitos polimorfonucleares se podrá informar como escasos, moderados o abundantes (no se realizan tinciones cuantitativas).

Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser notificada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente, mediante informes provisionales escritos o telefónicos.

Antes de emitir los informes de resultados, se tratará de evaluar de forma conjunta los resultados de todas las muestras de un mismo paciente, sobre todo el caso de sospecha de IPA. Se tendrán en cuenta los resultados de la tinción de Gram y su concordancia con los resultados de los cultivos. Se considerará si el mismo microorganismo (biotipo y perfil de sensibilidad) está en más de una muestra.

Se recomienda correlacionar los resultados de la tinción de Gram con los del cultivo antes de emitir el informe definitivo.

En el informe de resultados deberán constar todos los microorganismos aislados y su sensibilidad a los diferentes antibióticos que determine cada laboratorio.

Los aislados pertenecientes a la microbiota normal de la piel (*Corynebacterium* spp., estafilococos coagulasa negativa, etc.), se informarán como “microbiota de contaminación cutánea” en el caso de muestras de pacientes con artritis séptica y osteomielitis. En el caso de infecciones asociadas a implantes se informarán siempre con su sensibilidad a los antibióticos y se destacará si su aislamiento se ha realizado solamente en el caldo de enriquecimiento y si se han aislado únicamente tras cultivo prolongado.

Si el cultivo de la muestra resultara negativo, se emitirá el resultado al finalizar el periodo de incubación de los medios de cultivo, en el que conste “no se aíslan microorganismos”.

6.8. OBSERVACIONES Y PROCEDIMIENTOS NO ACEPTABLES

El laboratorio debe ser estricto en la valoración microbiológica de los aislados que pueden formar parte de la microbiota de la piel o ser contaminantes y en el modo en que se emite la información de los resultados de los cultivos. De un modo muy general, un informe con el aislamiento (identificación) y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de uno o más microorganismos, se suele interpretar como diagnóstico de infección, lo que puede provocar que se administre tratamiento antimicrobiano innecesariamente. Se debe tener especial cautela con los resultados de los cultivos de los implantes.

Si sólo se remiten botellas de hemocultivos inoculadas con líquido articular, no se podrá realizar la tinción de Gram.

La interpretación de los resultados de los cultivos de muestras de biopsias periprotésicas es difícil si no se envían al menos 3 muestras.

Se desaconseja rotundamente la toma de líquido articular y exudados periprotésicos con torunda (mayor contaminación, volumen insuficiente de muestra para los cultivos, inhibición de ciertos patógenos y menor supervivencia de las bacterias).

No está indicado el procesamiento de las muestras obtenidas a través de tubos de drenaje colocados durante más de 2 días, por la gran probabilidad de contaminación con la microbiota de la piel.

No se procesarán las muestras remitidas con conservantes tipo formol.

7. BIBLIOGRAFÍA

7.1. GENERAL

1. Bouza E, Barberan J. Infecciones óseas y osteoarticulares. Infecciones asociadas a material de osteosíntesis y prótesis articulares. En "Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Ausina Ruiz V y Moreno Guillén S (eds) pp. 1381-1396; 2006.
2. Bouza E, Muñoz P. Micro-organisms responsible for osteo-articular infections. Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol. 1999; 13:21-35.

7.2. ARTRITIS SÉPTICA

1. Brusch JL. Septic artritis. eMedicine Specialties Infectious Diseases. Updated Aug,. en http://emedicine.medscape.com/article/236299; 2008.
2. Goldenberg DL. Bacterial artritis. Curr Opin Rheumatol 1995; 7:310-314.
3. Margaretten ME, Kohiwes J, Moore D, Bent S. Does this adult have septic arthritis? JAMA 2007; 297:1478-1488.
4. Mathews CJ, and Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. Curr Opin Rheumatol 2008; 20:457-462.
5. Rice PA. Gonococcal arthritis (disseminated gonococcal infection). Infect Dis Clin North Am 2005; 19:853-861.
6. Rozadilla A, Nolla JM, Mateo L, del Blanco J, Valverde J, Roig D. Septic artritis induced by pyogenic germs in patients without parenteral drug addiction. Analysis of 44 cases. Med Clin (Barc) 1992; 98:527-30.

7.3. OSTEOMIELITIS

1. Cierny G, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. Clin Orthop Relat Res Sep 2003; 414:7-24.
2. Gross T, Kaim AH, Regazzoni P, Widmer AF. Current concepts in posttraumatic osteomyelitis: a diagnostic challenge with new imaging options. J Trauma 2002; 52:1210-1219.
3. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis.N Engl J Med 1997; 336:999-1007.
4. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. Lancet 2004; 364:369-379.

5. Mader JT, Shirtliff M, Calhoun JH. Staging and staging application in osteomyelitis. Clin Infect Dis 1997; 25:1303-1309.
6. Muñoz P, Bouza E. Acute and chronic adult osteomyelitis and prosthesis-related infections. Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol 1999; 13:129-147.

7.4. INFECCIÓN ASOCIADA CON IMPLANTES

1. Ariza J, Euba G, Murillo O. Orthopedic device-related infections. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26: 380-390.
2. Bauer TW, Parvizi J, Kobayashi N, Krebs V. Diagnosis of periprosthetic infection. J.Bone Joint Surg Am 2006; 88: 869-882.
3. Court-Brown CM, Keating JF, McQueen MM. Infection after Intramedullary Nailing of the Tibia. J Bone Joint Surg (Br) 1992; 74-B:770-774.
4. Darouiche RO. Treatment of Infections Associated with Surgical Implants. N Engl J Med 2004; 350:1422-1429.
5. Harwood PJ, Giannoudis PV, Probst C, Krettek C, Pape HC. The risk of local infective complications after damage control procedures for femoral shaft fracture. J Orthop Trauma 2006; 20:181-189.
6. Moussa FW, Anglen JO, Gehrke JC, Christensen G, Simpson WA. The significance of positive cultures from orthopaedic fixation devices in the absence of clinical infection. Am J Orthopaed 1997; 26: 617-620.
7. Schmidt AH, Swiontkowski MF. Pathophysiology of infections after internal fixation of fractures. J Am Acad Orthop Surg 2000; 8:285-291.
8. Singer PJ, Seligson D. What's in a nail? Journal of Orthopaedic Trauma 1990; 4:331-335.
9. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. J Bone Joint Surg Am 1996; 78:512-523.
10. Trampuz A, Zimmerli W. Diagnosis and treatment of infections associated with fracture-fixation devices. Injury 2006; 37:S59-S66.
11. Yokohama K, Uchino M, Nakamura K, Ohtsuka H, Suzuki T, Boku T. Risk factors for deep infection in secondary intramedullary nailing after external fixation for open tibial fractures. Injury 2006; 37:554-560.
12. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. N Engl J Med 2004; 351:1645-1654.

7.5. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

1. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, McLardy-Smith P, Berendt AR. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. J Clin Microbiol 1998; 36:2932-2939.
2. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C. 2004.
3. Spangehl MJ, Masterson E, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP. The role of intraoperative gram stain in the diagnosis of infection during revision total hip arthroplasty. J Arthroplasty 1999; 14:952-956.
4. Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. J Bone Joint Surg Am 1999; 81:672-683.
5. Wilson ML, Winn W. Laboratory diagnosis of bone, joint, soft-tissue, and skin infections. Clin Infect Dis 2008; 46:453-457.

7.6. BIOFILMS Y SONICACIÓN DE IMPLANTES

1. Costerton JW (Ed.). The biofilm primer. Berlin: Springer-Verlag. 2007.
2. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. Emerg Infect Dis 2001; 7:277-281.
3. Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Clin Infect Dis 2001; 33:1387-1392.
4. Esteban J, Gómez-Barrena E, Cordero J, Martín-de-Hijas NZ, Kinnari TJ, Fernández-Roblas R. Evaluation of quantitative analysis of cultures from sonicated retrieved orthopedic implants in diagnosis of orthopedic infection. J Clin Microbiol 2008; 46:488-492.
5. Esteban J, Cordero-Ampuero J, Adames H, Martín-de-Hijas NZ, Ortiz-Pérez A, Fernández-Roblas R. Evaluation of a sonication protocol for the detection of bacteria in retrieved osteosynthesis implants. 19th ECCMID. Helsinki. 2009. Abstract nº 867.
6. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol 2004; 2:95-108.
7. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med 2007; 357:654-663.
8. Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD, Steckelberg JM, Patel R. Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. Clin Orthop Relat Resp 2003; 414:69-88.
9. Trampuz A, Piper KE, Hanssen AD, Osmon DR, Cockerill FR, Steckelberg JMl. Sonication of explanted prosthetic components in bags for diagnosis of prosthetic joint infection is associated with risk of contamination. J Clin Microbiol 2006; 44:628-631.
10. Vila J, Soriano A, Mensa J. Molecular basis of microbial adherence to prosthetic materials. Role of biofilms in prosthesis-associated infection]. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26:48-54.

7.7. BIOLOGÍA MOLECULAR

1. Dora C, Altwegg M, Gerber C, Böttger EC, Zbinden R et al. Evaluation of conventional microbiological procedures and molecular genetic techniques for diagnosis of infections in patients with implanted orthopedic devices. J Clin Microbiol 2008; 46:824-825.
2. Trampuz A, Steckelberg JM, Osmon DR, Cockerill FR, Hanssen AD, Patel R. Advances in the laboratory diagnosis of prosthetic joint infection. Rev Med Microbiol 2003; 14:1-14.
3. Vandercam B, Jeumont S, Cornu O, Yombi JC, Lecouvet F, Lefevre P, Irenge LM, Gala JL. Amplification-based DNA analysis in the diagnosis of prosthetic joint infection. J Mol Diagn 2008; 10:537-543.

PNT-IOA-01

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO DEL LÍQUIDO ARTICULAR

ELABORADO		**REVISADO Y APROBADO**	
Nombre/Firma	Fecha	Nombre/Firma	Fecha

EDICIÓN	**FECHA**	**ALCANCE MODIFICACIONES**
01		Primera edición

COPIA REGISTRADA Nº.....**ASIGNADA A**.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital……. La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable del Área**.** Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir el procesamiento del líquido sinovial y de la membrana sinovial para el diagnóstico microbiológico de las infecciones de articulares, así como los criterios de interpretación de los cultivos.

2. FUNDAMENTO

La infección de la cavidad articular, es un proceso grave que cursa con signos de inflamación local, dolor y restricción de movimientos. La infección del espacio articular conduce al deterioro y destrucción rápida del cartílago, por lo que el cuadro debe ser considerado como una urgencia médica. La principal vía de acceso de los microorganismos a la articulación es la hematógena, aunque también pueden acceder directamente a través de una inoculación directa o de infecciones contiguas.

Cualquier agente infeccioso puede causar artritis séptica, pero los más frecuentes son los patógenos bacterianos de naturaleza piógena. *Staphylococcus aureus* es actualmente el principal agente etiológico de la artritis séptica, seguido de diversas especies de estreptococos (*Streptococcus* del grupo *viridans*, *Streptococcus pneumoniae* y estreptococos del grupo B). Otros microorganismos como *Neisseria gonorrhoeae* y *Brucella* spp. frecuentes hace años, actualmente se describen esporádicamente.

El diagnóstico microbiológico de la artritis séptica se basa en el aislamiento del microorganismo responsable a partir de muestras líquido o membrana sinovial. En el presente procedimiento se describen los métodos a seguir para el procesamiento de este tipo de muestras.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología nº 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Loza E (Coordinador). Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá LL. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología nº 10, 1ª edición. SEIMC. 2000. Disponible en: http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. 2004. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C.

4. MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en él deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del paciente, así como los datos del clínico que realiza la petición.

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La obtención de las muestras debe realizarse bajo estrictas condiciones de asepsia, para evitar la contaminación con microbiota de la piel y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

El área de piel en la que se va a realizar la aspiración debe desinfectarse con alcohol y después con tintura de yodo al 1-2% o una solución de povidona yodada al 10%.

4.2.1. Líquido sinovial. La obtención del líquido sinovial se puede realizar por tres procedimientos:

1) Punción percutánea con aguja y aspiración (artrocentesis);
2) drenaje por artroscopia y
3) artrotomía (drenaje quirúrgico abierto). La artroscopia es el sistema de elección, siempre que sea posible.

Inmediatamente después de obtener la muestra, se pueden seguir tres alternativas o la combinación de varias para su recogida:

A) Una vez realizada la aspiración con aguja y jeringa debe expulsarse el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocula el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un tubo estéril sin aire (tipo Vacutainer) o en tubo para transporte de anaerobios.

B) Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

C) Inocular, previa desinfección del tapón de goma, una porción (lo mayor posible, máximo de 10 ml) del líquido sinovial en botellas aerobias y anaerobias de hemocultivos (BACTEC).

D) Para facilitar el recuento de leucocitos, si se obtiene un volumen suficiente de líquido sinovial, se debe transferir al menos 1 ml en un tubo heparinizado o con EDTA para prevenir la coagulación. Este estudio, al igual que la búsqueda de cristales, suele ser realizado por el laboratorio de Bioquímica o en el Servicio de Reumatología.

E) Para el estudio microbiológico no es recomendable el uso de anticoagulantes, pero en caso de necesidad son preferibles la heparina sódica o el polianetolsulfonato sódico (SPS) al EDTA o al citrato.

4.2.2. Membrana sinovial. La membrana sinovial se obtiene mediante biopsia por artroscopia u artrotomía.

Si los fragmentos de la membrana son pequeños, se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en

contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.

Es necesario transportar la muestra al laboratorio de modo inmediato, ya que:

- Un período de tiempo prolongado afecta al recuento de leucocitos (desintegración de las células) y a la presencia de cristales (disolución) en el líquido sinovial.
- No olvidar que la artritis séptica es una situación clínica urgente, que requiere el informe rápido de la tinción de Gram y la siembra inmediata de la muestra.
- En caso de sospecha de infección por *Neisseria gonorrhoeae*, es obligada la inoculación inmediata de la muestra en el medio selectivo.

Por todo ello, el periodo máximo de llegada de las muestras al laboratorio no superará a las 2 horas posteriores a la toma. Si el transporte se demora, las muestras se mantendrán refrigeradas (2-8º C), excepto en el caso de sospecha de *N. gonorrhoeae*. Las muestras, una vez inoculadas, se mantendrán de 2-8º C al menos durante una semana.

4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

1ª Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo y cumplimentación inadecuada o incompleta de la hoja de petición.

2ª Mala conservación (temperatura, biopsias secas).

3ª Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas sin que se establezca por el facultativo peticionario un orden de prioridades.

4ª Muestras recogidas en torundas.

5ª Muestras obtenidas a través de un drenaje, en lugar de la aspiración directa, que conllevan un alto potencial de contaminación con microbiota de la piel.

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar colistina-nalidíxico (CNA)
- Agar Brucella
- Agar MacConkey (optativo)
- Agar Thayer-Martin (optativo)
- Agar Sabouraud (optativo)
- Caldo de enriquecimiento (BHI; caldo tioglicolato para bacterias anaerobias)
- Botellas aerobias y anaerobias de hemocultivos (optativo, pero recomendable)

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO_2 y de anaerobiosis)

6. APARATOS Y MATERIALES

- Cabina de seguridad biológica tipo II
- Pinzas estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Asas de siembra estériles
- Portaobjetos
- Sistema estéril para homogeneización de muestras
- Estufa de aerobiosis a 35ºC
- Jarras de incubación
- Centrífuga

7. PROCESAMIENTO

7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras serán procesadas tan pronto como se reciban en el laboratorio. El procesamiento se llevará acabo en cabina de bioseguridad tipo II.

7.1.1. Líquido sinovial.

1. Las muestras inoculadas en botellas de hemocultivos se registrarán y se introducirán en el incubador-lector de crecimiento (BACTEC o similar).
2. Las muestras de líquido sinovial contenidas en tubos estériles, así como las transportadas en jeringa, siempre que el volumen lo permita, se introducirán en un tubo cónico estéril para centrifugación. A partir del sedimento se sembrarán 2 ó 3 gotas de muestra con pipeta Pasteur estéril en los medios convencionales: agar sangre, agar chocolate, agar Brucella para anaerobios, agar CNA, agar MacConkey, agar Sabouraud, y caldo de enriquecimiento. Se realizará la siembra por agotamiento con asa estéril y por último, se preparar á la extensión sobre porta para realizar la tinción de Gram.
3. Opcionalmente, si el volumen de muestra lo permite, se debería inocular, previa desinfección del tapón de goma, una porción (1 a 10 ml) del líquido sinovial en botellas aerobias y anaerobias de hemocultivos (BACTEC o similar).
4. Si el volumen de muestra recibido es muy pequeño (1 ó 2 gotas), es conveniente inocular solamente una placa de agar chocolate y hacer una extensión para tinción de Gram. Después, añadir caldo de cultivo al tubo de transporte e incubar.
5. En caso de que el líquido sinovial se muestre coagulado, como ocurre en ocasiones, antes de la siembra se procederá a la dispersión del coágulo:
   - Colocar el coágulo en un homogenizador
   - Añadir al homogenizador un pequeño volumen (<5 ml) de solución salina estéril o caldo de cultivo y con suavidad dispersar el coagulo para liberar las bacterias atrapadas.

7.1.2. Membrana sinovial

1. Las piezas de la membrana sinovial recogidas por biopsia, deben homogeneizarse con una pequeña cantidad de solución salina estéril o caldo de cultivo antes de su siembra en los medios de cultivo. Las extensiones para tinciones pueden realizarse mediante impronta sobre el porta o bien a partir de la muestra homogeneizada.
2. Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, basta con fraccionar la muestra con bisturí, realizar una impronta con el borde de la muestra recién cortada en los diferentes medios y otra impronta sobre el porta.
3. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.

7.1.3. Cultivos especiales. En caso de petición de cultivo de microorganismos inusuales, se inocularán los medios especiales específicos.

7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey, agar CNA, Sabouraud (aerobiosis): 5 días.
- Agar chocolate (5-7% CO_2): 5 días.
- Agar Brucella (anaerobiosis): 7 días.
- En caso de se sospecha de infección por *Brucella* spp. u hongos prolongar la incubación.
- Botellas de hemocultivos aerobios: 10 días; anaerobios: 15 días.

7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

A) Tinción de Gram:

Los resultados de la observación microscópica de las extensiones del líquido sinovial o de la membrana sinovial (ausencia o presencia de leucocitos polimorfonucleares y ausencia o presencia de uno o varios morfotipos bacterianos) se informarán al clínico peticionario y quedarán registrados en la hoja de trabajo correspondiente a la muestra. A pesar de su utilidad, la sensibilidad del Gram en la artritis séptica no gonocócica se encuentra entre 30-50% y en la artritis gonocócica es inferior al 10%.

- En ocasiones, la formación de precipitados de cristal violeta junto con la mucina del líquido sinovial pueden mimetizar a cocos grampositivos, dando lugar a un resultado falsamente positivo.
- Igualmente, la viscosidad de la muestra dificulta la decoloración de las bacterias, de modo que los organismos grampositivos tienden a aparecer como gramnegativos o viceversa.
- En otras ocasiones, es posible visualizar la presencia de cristales en el líquido sinovial (indicadores de gota), lo que no invalida la coexistencia de éstos con microorganismos (gota + artritis séptica).

B) Cultivos del líquido y membrana sinovial.

Examinar todas las placas y caldos cada 24 horas, y hasta un total de 5 días, para la detección de crecimiento macroscópico.

- Si no hay crecimiento visible, reincubar.
- Si los cultivos presentan crecimiento:
  - Correlacionar los aislados con los morfotipos observados en la tinción de Gram.
  - Notificar al facultativo peticionario un informe preliminar con la identificación presuntiva.
  - Identificar los aislados a nivel de especie y realizar pruebas de sensibilidad a los antibióticos según las normas estandarizadas (CLSI, EUCAST).
  - Se recomienda investigar especialmente los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.
  - Si el aislado pertenece a la microbiota de la piel, identificar sólo a nivel de género y no realizar pruebas de sensibilidad a los antibióticos.
  - Si el crecimiento se produce sólo en los caldos de cultivo (turbidez) y no en las placas, dar un pase del caldo a placas y correlacionar el aislado con el morfotipo observado en la tinción de Gram.
  - Cuando en un caldo crecido se observen por tinción de Gram microorganismos que no crecen en el subcultivo, proceder a subcultivar en medios nutricionalmente más enriquecidos y en condiciones de incubación especiales.

7.4. CONTROL DE CALIDAD

- Comprobar según el "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media: Approved Standard. 3 Edition M22-A3 (formerly CLSI)" que el control de los medios convencionales está asegurado por la empresa manufacturadora y por lo tanto están exentos de otros controles.
- Comprobar que los medios de cultivo se encuentran dentro de la fecha de caducidad.
- Participación en ejercicios de intercomparación (Programa de Control de Calidad de la SEIMC).
- Realización de inoculación de muestras en doble ciego y comparación de los resultados obtenidos.

8. OBTENCION Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1. TINCIÓN DE GRAM

Tanto en las extensiones del líquido sinovial como de la membrana sinovial, se informarán la presencia o ausencia de leucocitos polimorfonucleares. Así como todos los morfotipos observados en la tinción de Gram.

8.2. CULTIVOS

Siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informarán y se valorarán (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados considerados esencialmente patógenos (*S. aureus, Streptococcus* spp., *Pseduomonas aeruginosa,* etc.). Las infecciones articulares son típicamente purulentas y van acompañadas de un número elevado de leucocitos (>50.000 células/mm^3), con más del 75%

de polimorfonucleares, en el líquido sinovial.
No obstante, se pueden observar recuentos bajos principalmente en la artritis séptica de los pacientes inmunodeprimidos, pero también en la infección por micobacterias, *Neisseria* y algunos microorganismos grampositivos.
El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp. tiene valoración microbiológica en las muestras de líquido o membrana sinovial procedentes de pacientes con prótesis articular supuestamente infectada.
Los cultivos en los que se aísla microbiota comensal del área anatómica se informará como "microbiota saprofita de la piel".
Los cultivos sin aislamientos se informan como "no se aíslan microorganismos".

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de Microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.
La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.
El área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología es responsable de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
El personal técnico es responsable de la realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica, así como del registro de resultados, la trascripción correcta de los resultados al ordenador, la emisión de informes, el archivo de hojas de trabajo y la comunicación telefónica al Servicio peticionario de los resultados preliminares positivos.
El facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos, determinación de los microorganismos a valorar y validación de los informes emitidos. Asimismo, debe supervisar el trabajo del personal técnico, adoptar medidas correctoras de errores cometidos, firmar el informe de resultados y realizar y responder a las interconsultas.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Es importante tener presente que la artritis séptica causada por bacterias piógenas es la forma de artritis aguda potencialmente más peligrosa y destructiva, por lo que siempre debe ser considerada como una urgencia clínica y microbiológica.
En los casos de importante sospecha clínica de artritis séptica en los que no se aísle el agente patógeno, está indicado referir la muestra a otro laboratorio para la realización de técnicas moleculares (infección por micobacterias, gonococo, hongos, *Borrelia* u otros microorganismos inusuales).
Hay que tener presente, que un recuento de leucocitos elevado en el líquido sinovial no siempre es debido a una infección de la articulación.
No se recomienda rechazar o no procesar ninguna muestra (por ejemplo, derramamiento durante el transporte) sin consultar previamente con el clínico. Se procesará, indicando en el informe sobre la posibilidad de contaminación debida al estado de la muestra a la llegada al laboratorio.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede dar lugar a cultivos negativos.
- Igualmente, la presencia de EDTA o citrato en los tubos de recogida de las muestras puede afectar al aislamiento de los microorganismos.
- No se deben aceptar las muestras recogidas con torundas.
- Tampoco se deben aceptar para cultivo los drenajes articulares por la posible contaminación que conllevan, especialmente si llevan más de 2 días implantados en la articulación.
- Un volumen reducido de muestra obliga a priorizar con el clínico peticionario las peticiones de cultivo, además de reducir el número de medios a inocular.
- Si sólo se remiten botellas de hemocultivos, no se podrá realizar la tinción de Gram.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. 2004. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C.
2. Mathews CJ, Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. Curr Opin Rheumatol 2008; 20:457-462.
3. Margaretten ME, Kohiwes J, Moore D, Bent S. Does this adult have septic arthritis? JAMA 2007; 297:1478-1488.
4. Wilson ML, Winn W. Laboratory diagnosis of bone, joint, soft-tissue, and skin infections. Clin Infect Dis 2008;46:453-457.

PNT-IOA-02

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS DE BIOPSIAS ÓSEAS Y PERIIMPLANTES

ELABORADO		**REVISADO Y APROBADO**	
Nombre/Firma	Fecha	Nombre/Firma	Fecha

EDICIÓN	**FECHA**	**ALCANCE MODIFICACIONES**
01		Primera Edición

COPIA REGISTRADA Nº.....**ASIGNADA A**.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital…… La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable del Área**.** Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El propósito del presente documento es la descripción del procesamiento microbiológico e interpretación de los resultados de los cultivos de muestras de biopsias óseas y periimplantes para el diagnóstico de infecciones osteoarticulares.

2. FUNDAMENTO

El análisis microbiológico de las biopsias de hueso y de las tomadas alrededor de las prótesis articulares e implantes intramedulares constituye, junto con el estudio del líquido articular en las artritis sépticas, el pilar fundamental del diagnóstico etiológico de las infecciones osteoarticulares (artritis séptica, osteomielitis e infecciones asociadas a prótesis articular y material de osteosíntesis).

La recogida de este tipo de muestras requiere de un método invasivo por lo que se debe dar la mayor importancia y se deben manipular en las mejores condiciones posibles. Un procesamiento rápido y una adecuada interpretación de los resultados de los cultivos, es esencial para el éxito del tratamiento del paciente. Cualquier microorganismo encontrado en dichos cultivos debe de ser considerado como potencialmente significativo, al ser muestras obtenidas de compartimentos estériles.

La interpretación de los resultados de los cultivos en este tipo de infecciones es en muchos casos compleja y requiere una evaluación cuidadosa, sobre todo en el caso de infecciones asociadas a implantes, ya que muchos de los microorganismos que las causan son considerados habitualmente como contaminantes de la toma y procesamiento de las muestras (*Staphylococcus epidermidis*, otros estafilococos coagulasa negativa, *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium acnes*).

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología nº 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Loza E (Coordinador). Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá LL. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología nº 10, 1ª edición. SEIMC. 2000. Disponible en: http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. 2004. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C.

4. MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe estar estrictamente cumplimentado y en él deberán constar los siguientes datos:

- demográficos del paciente y servicio de ingreso hospitalario
- fecha
- tratamiento antibiótico previo
- enfermedad de base
- identificación del clínico responsable de la solicitud
- juicio clínico
- tipo de muestra
- determinaciones microbiológicas solicitadas

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La obtención de las muestras debe realizarse bajo estrictas condiciones de asepsia para evitar la contaminación con la microbiota de la piel y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antibiótico.

Si se ha iniciado el tratamiento antibiótico es conveniente interrumpirlo, siempre que sea posible, al menos 2 días antes de la toma de muestras (15 días antes en el caso de infecciones asociadas con prótesis articular).

La toma de muestras de biopsias de hueso y de tejidos adyacentes en la mayoría de los casos, se realiza por un traumatólogo mediante cirugía abierta. Cuando se toman varias biopsias del mismo paciente, se deben utilizar bisturíes distintos para cada muestra, para evitar contaminaciones que dificulten la interpretación de los resultados de los cultivos.

- En infección de prótesis articular se deben tomar 5-6 muestras mediante un protocolo estandarizado de toma y localización de muestras que debería incluir: líquido articular y membrana sinovial antes de abrir la articulación (PNT-IOA-01 de este procedimiento)
- Interfase entre el cemento y el hueso tanto de los componentes femorales como tibiales en prótesis de rodilla y de los componentes femorales y cotiloideos en prótesis de cadera.
- Biopsias de las cavidades endomedulares al retirar el implante y muestras de cualquier tipo de exudado que rodee a la prótesis mediante aspiración
- Implante para su sonicación y cultivo (PNT-IOA-04 de este procedimiento)

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Una vez tomadas las muestras se deben introducir en recipientes estériles de tamaño adecuado y cierre hermético. Se deben cerrar inmediatamente y llevarse al laboratorio lo más rápidamente posible. El procesamiento de las muestras se realizará lo más brevemente posible y si se tiene que retrasar se deberán conservar las muestras refrigeradas entre 2-8ºC, hasta

su procesamiento, durante un tiempo no mayor de 24 h. Se podrá añadir suero salino estéril recién abierto para evitar la desecación de las muestras. En ningún caso se pueden congelar las muestras destinadas al cultivo.

4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

En principio se intentará no rechazar muestras de biopsias óseas para su procesamiento, al ser muestras que no se pueden volver a tomar con facilidad, pero se deben reflejar en los informes de resultados cualquier incidencia en su identificación, transporte o conservación

Se tendrán en cuenta las siguientes incidencias relacionadas con la recepción de la muestra:

- Identificación defectuosa: etiquetado erróneo y cumplimentación incompleta de la hoja de petición.
- Conservación defectuosa (temperatura, biopsias secas).
- Si la muestra es insuficiente para todas las determinaciones solicitadas, se consultara con el clínico responsable para que establezca un orden de prioridades de la petición.

Sólo se consideran motivo de rechazo los siguientes:

- Imposibilidad de identificación del paciente
- Muestras no identificadas
- Volantes sin nombre
- No coincidencia del nombre del paciente en muestras y volante
- Muestras remitidas en formol

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

Agar sangre (AS)
Agar McConkey (McC) o Agar Levine (eosina-azul de metileno) (EMB)
Agar Chocolate (ACh)
Agar CNA (colistina-ácido nalidíxico)
Agar Brucella o Agar Schaedler
Caldo de enriquecimiento: BHI, TSB o Tioglicolato

Reactivos:

Los necesarios para la tinción de Gram

6. APARATOS Y MATERIALES

Material:

Placas Petri
Bisturíes
Homogenizadores de muestra o morteros estériles
Portas limpios
Suero salino estéril o agua destilada estéril
Asas de siembra y pipetas Pasteur estériles
Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO_2 y de anaerobiosis)
Jarras de cultivo

Aparatos:

- Estufas de incubación a 37ºC
- Lupa
- Microscopio
- Campana de anaerobios

7. PROCESAMIENTO

7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN

El pretratamiento de las muestras se recoge en la sección 7.2.1. del procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología" y el en PNT-RTP-01 de este procedimiento.

Las muestras deberán ser procesadas con la mayor brevedad posible en una cabina de bioseguridad siguiendo las recomendaciones recogidas en el procedimiento 10 de la SEIMC “Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica”.

En caso de sospecha de infección por hongos o micobacterias se seguirán las recomendaciones de los procedimientos de la SEIMC 9a “Micobacterias” y 21 “Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudio de la sensibilidad a los antifúngicos”.

A todas las muestras se les realizará tinción de Gram. Las muestras de biopsias se cortan en trozos en una placa de Petri estéril con un bisturí estéril. Los distintos fragmentos se deben homogenizar en un mortero estéril con una pequeña cantidad de solución salina estéril o caldo BHI antes de su siembra en los medios de cultivo (aproximadamente 1 ml). En el caso de sospecha de infección por hongos filamentosos no se deben triturar las muestras, se debe cortar en pequeños fragmentos que se colocarán directamente en los medios de cultivo para hongos. Las extensiones para tinciones, pueden realizarse mediante impronta sobre el porta o bien a partir de la muestra homogeneizada.

La siembra se realizará con un asa ó pipeta estéril, pasando 0,1 ml del homogeneizado a la placa de cultivo en un cuadrante de la misma. A continuación se extenderá con asa de siembra, por agotamiento a través de toda la placa, en los tres cuadrantes restantes. Esto se realiza igual para todas las placas utilizadas en el cultivo. Los medios líquidos se siembran con pipeta. Se colocará una gota del homogeneizado en un porta para la tinción de Gram.

Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento. Las muestras de biopsias óseas duras que no se puedan fragmentar se añadirán directamente a caldo de enriquecimiento. Para realizar las extensiones para tinción de este tipo de muestras, se puede incluir la muestra entre dos portas presionando y desplazando ambos entre sí hasta conseguir una extensión fina.

Como mínimo, se recomienda inocular la muestra en AS, un medio enriquecido como ACh, un medio para anaerobios (tipo agar Brucella) y un caldo de enriquecimiento, para recuperar microorganismos presentes en número reducido. Además, si la cantidad de muestra es suficiente, se recomienda inocular también medios selectivos para aerobios Gram positivos (CNA) y Gram negativos (EMB o McC).

Es conveniente conservar, una porción de las muestras que sobren, refrigeradas durante unos 7

días por si se necesita realizar comprobaciones o estudios posteriores.

7.2. CONDICIONES Y TIEMPOS DE INCUBACIÓN

Las placas de agar sangre se incubarán a 35-37ºC en aire o atmósfera con 5% de CO_2. Las placas de agar chocolate y CNA se incubarán también a 35-37ºC siempre con atmósfera de 5% de CO_2. Las placas de agar Brucella y/o agar Schaedler para el cultivo de anaerobios se incubarán a 35-37ºC en atmósfera de anaerobiosis.

Los caldos se incubarán a 35-37º C en aire. Se comprobará diariamente el crecimiento de microorganismos mediante visualización de turbidez, en caso de que esta aparezca se realizará subcultivo en los medios sólidos descritos previamente.

El tiempo de incubación de las placas será de 5 días y los caldos de enriquecimiento de 10 días. En caso de sospecha de microorganismos de crecimiento más lento (*Brucella* spp. o micobacterias), este período se alargará convenientemente.

7.3. EXAMEN DE TINCIONES

Tinción de Gram:

Se informará cualquier microorganismo que se visualice en la tinción de Gram. Se valorará la presencia de leucocitos polimorfonucleares que indican la presencia de reacción inflamatoria.

Se debe visualizar la extensión completa ya que en este tipo de infecciones los microorganismos suelen estar en baja carga. Si se visualizan microorganismos que se considera que no pueden crecer en los medios habituales, se añadirán los medios de cultivo adecuados para su crecimiento.

Cultivos:

Los medios sólidos y los caldos de enriquecimiento serán examinados diariamente para detectar la presencia de crecimiento. La primera lectura de las placas se hará a las 24 horas de incubación. Los medios líquidos se examinarán diariamente para ver si existe turbidez indicativa de crecimiento.

Si se observa crecimiento en los medios sólidos, se intentará realizar una identificación presuntiva del microganismo aislado mediante tinción de Gram, catalasa, coagulasa, oxidasa, etc. y si se considera relevante se avisará al facultativo que realizó la petición.

En las infecciones osteoarticulares es muy importante una evaluación minuciosa de los cultivos, buscando diferentes morfotipos, sobre todo en el caso del aislamiento de posibles contaminantes de la piel (*S. epidemidis*, otros estafilococos coagulasa negativa, etc.). Si se obtienen cultivos mixtos se realizarán los subcultivos necesarios para obtener los microorganismos en cultivo puro. Si no hay crecimiento se reincubarán todas las placas y caldo y se reexaminarán diariamente hasta el final del periodo de incubación.

Se deben valorar como significativos los aislados de microorganismos que en otras circunstancias se considerarían como microbiota normal de la piel (*S. epidermidis*, otros estafilococos coagulasa negativa, *Corynebacterium* spp., *P. acnes*, *Streptococcus* del grupo *viridans*, etc). La interpretación de su papel en la infección dependerá en gran medida, de los resultados de otras muestras del mismo paciente.

Tanto si hay crecimiento en las placas de cultivo primario como si no y el caldo está turbio, se realizará tinción de Gram y según los microorganismos que se observen se realizarán subcultivos en los medios generales y selectivos adecuados para su aislamiento. Cuando las muestras se han inoculado sólo en caldos de enriquecimiento, es conveniente realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo “de salida” a medios sólidos enriquecidos agar sangre, agar chocolate y agar Brucella, aunque no se haya observado turbidez. En la valoración de los cultivos negativos se debe tener en cuenta la posibilidad de que el paciente haya recibido tratamiento antibiótico previo a la obtención de la muestra.

Se identificarán todos los aislados y se realizarán las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Si se registra crecimiento de aparentemente el mismo microorganismo en distintas muestras del mismo paciente, se realizará la identificación y pruebas de sensibilidad a todos ellos, para facilitar la interpretación del papel de los microorganismos aislados en la infección. En los microorganismos anaerobios no suele estar recomendada la realización de pruebas de sensibilidad a todos los aislados.

Se recomienda guardar las placas de la siembra directa, hasta que se tengan los resultados definitivos del cultivo, por si fuera necesario realizar pruebas adicionales.

Es conveniente conservar los aislados más significativos en un archivo de cepas para estudios posteriores.

8. OBTENCION Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1. TINCIÓN DE GRAM

Las tinciones de Gram se visualizarán e informarán lo más rápidamente posible y siempre en el turno de trabajo de recepción de la muestra. Si son muestras intraoperatorias se deben realizar e informar con carácter urgente.

Se informarán todos los microorganismos presentes en la tinción de Gram, siempre que las muestras hayan sido convenientemente recogidas y conservadas. La presencia de leucocitos polimorfonucleares indica la presencia de inflamación aguda y es presuntiva de infección. Se podrá informar como escasos, moderados o abundantes (no se realizan tinciones cuantitativas).

8.2 CULTIVOS

Se informará la identificación y sensibilidad de cualquier microorganismo que se aísle en cultivo a partir de una biopsia ósea. Si el aislamiento se ha realizado sólo a partir de medios de enriquecimiento, se reflejará en el informe de resultados y se hará constar el tiempo que ha tardado el microorganismo en crecer, sobre todo cuando se aíslen

microorganismos que forman parte de la microbiota normal de la piel (por ejemplo: se aísla *S. epidermidis* en medio de enriquecimiento a los 5 días de incubación).
Se recomienda correlacionar los resultados de la tinción de Gram con los del cultivo antes de emitir el informe definitivo. En el informe de resultados deberán constar todos los microorganismos aislados y su sensibilidad a los grupos de antibióticos que determine cada laboratorio.
Antes de emitir los informes se tratará de evaluar de forma conjunta los resultados de todas las muestras de un mismo paciente, sobre todo el caso de sospecha de infección de prótesis articular. Se tendrán en cuenta los resultados de la tinción de Gram y su concordancia con los resultados de los cultivos. Se considerará si el mismo microorganismo (biotipo y antibiotipo) está en más de una muestra.
Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser informada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente mediante informes provisionales escritos o telefónicos.
Si los cultivos de la muestra resultaran negativos a las 48 horas de incubación se emitirá un informe en el que conste “no se aíslan microorganismos a las 48 h de incubación” y se refleje que la muestra se mantiene en incubación y se informará posteriormente en caso de positividad.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante.
La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.
El área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología es responsable de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
El personal técnico del laboratorio de microbiología es responsable de la realización de las técnicas microbiológicas: tinciones, siembra, pruebas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica, así como del archivo de las hojas de trabajo.
El facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos, determinación de los microorganismos a valorar, registro de los resultados positivos, información telefónica de los resultados relevantes y validación de los informes emitidos. El facultativo deberá supervisar del trabajo del personal técnico, adoptar de medidas correctoras de errores cometidos, firmar los informes de resultados y resolver las interconsultas.
Los facultativos residentes en formación tendrán una responsabilidad compartida con el técnico y con el facultativo especialista responsable del área, aunque nunca podrá validar ni firmar ningún informe.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Es importante considerar que las infecciones osteoarticulares son procesos graves que requieren un tratamiento optimizado y precoz. Por lo tanto, se deberán realizar todos los procedimientos microbiológicos encaminados a su diagnóstico con la mayor rapidez posible e informar todos los resultados que pueden conllevar la toma de una decisión terapéutica importante para el manejo del paciente.
Es conveniente realizar formación desde el laboratorio de microbiología, sobre la interpretación de los resultados de los cultivos en este tipo de infecciones y emitir recomendaciones sobre el envío de un número correcto de muestras en el caso de infecciones asociadas a prótesis articulares.
El personal del laboratorio de microbiología deberá completar las peticiones realizadas por los facultativos responsables del paciente, cuando lo considere oportuno, según el tipo de infección, la muestra recibida y el tipo de paciente.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Si el paciente recibe antibioterapia previa a la extracción de la muestra, los cultivos pueden verse alterados.
La interpretación de los resultados de los cultivos de muestras de biopsias periprotésicas es difícil si no se envían al menos 3 muestras.
Una cantidad escasa de muestra limita el rendimiento de los métodos microbiológicos.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Ariza J, Euba G, Murillo O. Infecciones relacionadas con las protesis articulares. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26:380-390.
2. Atkins BL, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. J Clin Microbiol 1998; 36:2932-2939.
3. Bouza E, Barberan J. Infecciones óseas y osteoarticulares. Infecciones asociadas a material de osteosíntesis y prótesis articulares. En "Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Ausina Ruiz V, y Moreno Guillén S. *(eds).* 2006: pp. 1381-1396.
4. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. 2004. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C.
5. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML., Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 2007.
6. Wilson ML, Winn W. Laboratory diagnosis of bone, joint, soft-tissue, and skin infections. Clin Infect Dis 2008; 46:453-457.

PNT-IOA-03

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE COLECCIONES Y ABSCESOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES OSTEOARTICULARES

ELABORADO		**REVISADO Y APROBADO**	
Nombre/Firma	Fecha	Nombre/Firma	Fecha

EDICIÓN	**FECHA**	**ALCANCE MODIFICACIONES**
01		Primera edición

COPIA REGISTRADA Nº.....**ASIGNADA A**.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital……. La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable del Área**.** Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El propósito del presente documento es asegurar la estandarización en la toma y el manejo de muestras de colecciones y abscesos en la infección ostearticular para garantizar el aislamiento de los microorganismos implicados en su producción. Se describen la toma de muestra, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

El alcance del documento es el personal médico y de enfermería encargado de la toma de muestras de colecciones y abscesos de infecciones ostearticulares, y el personal del laboratorio de microbiología que interviene en el procesamiento de estas muestras.

2. FUNDAMENTO

El diagnóstico de osteomielitis se basa en la obtención de una muestra adecuada para el estudio microbiológico. Las muestras ideales son los hemocultivos si la osteomielitis es hematógena, las biopsias óseas y las colecciones o abscesos cerrados adyacentes al hueso. En este documento se describe el procesamiento de éstas últimas.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología nº 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Loza E (Coordinador). Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá LL. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología nº 10, 1ª edición. SEIMC. 2000. Disponible en: http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Second Edition, vol. 1. 2004. Section 3.5: Aerobic Bacteriology. Body fluids cultures. ASM Press. Washinngton D.C.

4. MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

Identificar las muestras y rellenar el volante con los siguientes datos:

- demográficos del paciente
- fecha
- tratamiento antibiótico previo
- enfermedad de base
- juicio clínico
- tipo de muestra
- determinaciones microbiológicas solicitadas

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

Se considera absceso a toda lesión cerrada, de origen infeccioso, con contenido en su interior, que se manifiesta por la presencia de signos inflamatorios (dolor o aumento localizado de la sensibilidad, enrojecimiento, calor). En el caso de la infección ósea el absceso puede ser intramedular y no manifestar clínica externa. En tal caso la muestra a obtener sería una biopsia ósea.

Se recomienda que la toma de muestra se realice ANTES de iniciar el tratamiento antibiótico

4.3. MATERIAL NECESARIO

- Gasas estériles
- Alcohol etílico o isopropílico al 70%
- Povidona yodada al 10%
- Jeringa estéril
- Aguja intramuscular

4.4. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Desinfectar la piel. Limpiar la zona con alcohol, de forma concéntrica, comenzando por el centro. Abarcar una zona de unos 10 cm.
- Repetir la operación con povidona yodada. En pacientes con hipersensibilidad al yodo, en lugar de povidona se utilizará alcohol 2 veces consecutivas
- Dejar secar al menos 1 minuto para que la povidona ejerza su acción antiséptica
- Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja
- Inocular en un medio de transporte adecuado, vial para transporte de anaerobios (portagerm) o tubo estéril.
- Deberá enviarse un volumen de muestra de entre 1 y 5 mL

4.5. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se recomienda que las muestras se envíen INMEDIATAMENTE al laboratorio, estando prohibido el uso de tubos neumáticos para este fin. Si no es posible, las muestras se mantendrán a temperatura ambiente.

Observaciones:

Es muy importante especificar en el volante de petición la localización anatómica del absceso con vistas a la interpretación de los resultados.

4.6. CRITERIOS DE RECHAZO

Sólo se consideran motivo de rechazo los siguientes:

- Imposibilidad de identificación del paciente
- Muestras no identificadas
- Volantes sin nombre
- No coincidencia del nombre del paciente en muestras y volante

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

Agar sangre (AS)
Agar Levine (eosina-azul de metileno) (EMB) o agar McConkey (McC)
Agar Chocolate (ACh)
Agar CNA (colistina-ácido nalidíxico)
Agar Brucella
Agar Schaedler

Agar Schaedler con kanamicina y vancomicina
Caldo de enriquecimiento: BHI o tioglicolato
Reactivos:
Los necesarios para la tinción de Gram

6. MATERIAL
Portas limpios
Suero salino estéril o agua destilada estéril
Asas de siembra estériles

7. PROCESAMIENTO
7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA
Como mínimo, se recomienda inocular la muestra en AS, un medio enriquecido como ACh y un caldo de enriquecimiento, para recuperar microorganismos presentes en número reducido. Además, si la cantidad de muestra es suficiente, se recomienda inocular también medios selectivos para aerobios Gram positivos (CNA) y Gram negativos (EMB o McC).
La siembra se realizará pasando una pequeña parte de la muestra a la placa de cultivo en un cuadrante de la misma. A continuación se extenderá con el asa a través de toda la placa en los tres cuadrantes restantes. Esto se realiza de igual forma para todas las placas del cultivo. El caldo se inoculará con una pequeña cantidad de la muestra. En estas muestras se recomienda añadir una placa de agar Brucella (ABru) o agar Schaedler (ASch) y una placa de agar Schaedler con kanamicina y vancomicina (AKV).

7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN
Las incubaciones serán en estufa a 35ºC-37ºC para todos los medios de cultivo ordinario. Las atmósferas serán de aerobiosis para AS, EMB o McC y caldo tioglicolato, con un 5-10% de $C0_2$ para ACh y CNA y en anaerobiosis para ABru o ASch y AKV.

7.3. EXAMEN DE TINCIONES
El examen de la tinción de Gram permitirá determinar si se requiere un procesamiento adicional de la muestra, como cultivo de hongos o de anaerobios, o el empleo de medios de cultivo o de técnicas especiales.
Se recomienda correlacionar los resultados de la tinción de Gram con los del cultivo antes de emitir el informe definitivo. Todos los microorganismos presentes en cantidad importante en la tinción de Gram en muestras bien recogidas deben informarse.

7.4. EVALUACIÓN DE CULTIVOS
En líneas generales, se recomienda examinar las placas a las 24 horas y a las 48 horas de incubación e incubar el caldo un mínimo de 72 horas. Las placas para aislamiento de anaerobios se procesarán según el Procedimiento nº 16 de la SEIMC: “Bacterias anaerobias”.
Si a las 24 horas hay crecimiento de colonias éstas se estudiarán según los microorganismos aislados, realizando identificación y pruebas de sensibilidad si precisan. Se recomienda reincubar todas las placas sembradas.
A las 48 horas se volverán a leer las placas y se estudiarán aquellos microorganismos de nueva aparición.
Si sólo hubiera crecimiento en el caldo de enriquecimiento, se realizará una tinción de Gram y se subcultivará a los medios apropiados.
Las placas sin crecimiento y los caldos de enriquecimiento estériles se reincubarán hasta las 72 horas como mínimo.
Se recomienda guardar las placas de la siembra directa hasta que no se tengan los resultados definitivos del cultivo, por si fuera necesario realizar pruebas adicionales.
Se recomienda identificar únicamente aquellos microorganismos potencialmente patógenos con la máxima rapidez posible.
Se valora siempre el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus,* estfilococos coagulasa negativa, enterococos en cultivo puro y aún más si existe tinción de Gram sugerente, así como enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*.
Se deben realizar los procedimientos microbiológicos que proporcionen la información clínica más relevante en el menor tiempo posible. La profundidad de la investigación microbiológica viene determinada por la procedencia anatómica de la muestra, la técnica de recogida de la misma y los resultados de la tinción de Gram. También es importante el tipo de paciente y sus enfermedades de base.

7.5. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS Y LIMPIEZA
Todo el material punzante utilizado se desechará en un contenedor de objetos punzantes o en el de residuos biológicos (clase III).
Los residuos clínicos y microbiológicos que se vayan generando se depositarán en el contenedor de residuos biológicos (clase III). Cuando esté lleno, se cerrará el contenedor y se avisará al personal de mantenimiento para que proceda a su retirada y reponga uno vacío en su lugar.
Diariamente se cambiarán los papeles de filtro protectores de todas las superficies de trabajo y se limpiarán las mesas de trabajo con una solución desinfectante.

8. OBTENCION Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS
Si el cultivo es negativo se informará como "cultivo negativo" y si es positivo se informarán los diferentes microorganismos aislados y se informará su sensibilidad a antimicrobianos, tal y como se detalla en el apartado anterior.

9. RESPONSABILIDADES
El proceso de recogida de muestra es responsabilidad del servicio peticionario. La información sobre las normas de recogida, transporte

y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.
La responsabilidad del correcto procesamiento de las muestras es del técnico de laboratorio lo lleve a cabo. En caso de duda, consultará con un facultativo del laboratorio de Microbiología.
La responsabilidad de la visualización de las tinciones, de la identificación de los microorganismos y de la realización e interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (cuando proceda) corresponde a los facultativos del laboratorio de Microbiología.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

La importancia de las infecciones osteoarticulares requiere un procesamiento urgente de las muestras y la información, al clínico responsable del paciente, de todos los hallazgos microbiológicos que puedan ser relevantes para la toma de una decisión terapéutica importante.
Se deben realizar los procedimientos microbiológicos que proporcionen la información clínica más relevante en el menor tiempo posible. La profundidad de la investigación microbiológica viene determinada por la procedencia anatómica de la muestra, la técnica de recogida de la misma y los resultados de la tinción de Gram. También es importante el tipo de paciente y sus enfermedades de base.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El empleo de medios inadecuados de transporte de la muestra puede dificultar el aislamiento de bacterias anaerobias.
El procesamiento de muestras de pacientes en tratamiento antibiótico puede disminuir el rendimiento del cultivo.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Manual of Clinical Microbiology. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC y Yolken RH, editores. American Society for Microbiology, Washington, 1999. 7ª edición
2. A guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. Miller JM. American Society for Microbiology, Washington, 1999. 1ª edición
3. Bouza E, Muñoz, P. Microorganisms responsible for osteoarticular infections. Baillieres Best Pract Clin Reumatol. 1999; 13:21-35.
4. Bouza E, Barberan J. Infecciones óseas y osteoarticulares. Infecciones asociadas a material de osteosíntesis y prótesis articulares. En "Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Ausina Ruiz V, y Moreno Guillén S. *(eds).* 2006: pp. 1381-1396.

PNT-IOA-04

PROCESAMIENTO DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS MEDIANTE SONICACIÓN

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre/Firma	Fecha	Nombre/Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01		Edición inicial

COPIA REGISTRADA Nº.....**ASIGNADA A**.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital …….. La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo de este documento es definir la metodología empleada para el procesamiento microbiología de implantes empleados en cirugía ortopédica y traumatológica mediante sonicación, con el objeto de realizar el diagnóstico de la infección relacionada con estos materiales.

Este procedimiento es aplicable a todos los laboratorios de microbiología clínica que posean la dotación y experiencia adecuada en técnicas de cultivo bacteriológico convencional, y que dispongan del aparataje necesario para su realización.

2. FUNDAMENTO

La infección relacionada con implantes es un cuadro de difícil diagnóstico etiológico debido fundamentalmente a la patogenia de la misma. La formación de biopelículas por diversos organismos o grupos de organismos se considera actualmente el primer factor de patogenicidad. La existencia de estas biopelículas dificulta el diagnóstico convencional basado en la realización de cultivos de los tejidos periféricos, puesto que los patógenos se encuentran habitualmente incluidos en una matriz extracelular de consistencia viscoelástica, por lo que su presencia en tejidos tendría lugar solamente si estos organismos se liberan de la biopelícula durante la maduración de la misma o bien durante el acto quirúrgico. Los cultivos realizados de hisopado de los implantes tras la cirugía pueden ser insuficientes al abarcar sólo pequeñas zonas del implante, en el cual la distribución de la biopelícula es aleatoria.

La liberación de los organismos presentes en las biopelículas mediante sonicación es un procedimiento usado desde hace tiempo en estudios *in vitro*, que recientemente ha sido evaluado clínicamente para el diagnóstico microbiológico de estas infecciones con resultados superiores a los de los cultivos convencionales.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología nº 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

- Loza E (Coordinador). Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá LL. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología nº 10, 1ª edición. SEIMC. 2000. Disponible en: http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia

Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01). SEIMC, 2003.

4. MUESTRAS

Esta técnica se aplicará sobre los implantes obtenidos tras cirugía (prótesis osteoarticulares y material de osteosíntesis) en pacientes con cuadros clínicos sugerentes de infección relacionada con los mismos.

5. REACTIVOS Y PRODUCTOS

- Reactivos necesarios para realizar tinción de Gram.
- Tampón PBS estéril.
- Medios de cultivo para aislamiento de bacterias, micobacterias y hongos

6. APARATOS Y MATERIALES

- Sonicador de baño de baja potencia (frequencia, 40±2 kHz).
- Vórtex.
- Estufa de CO_2.
- Estufa de atmósfera normal.
- Centrífuga refrigerada
- Sistemas de anaerobiosis.
- Recipientes de material plástico rígido estériles de diversos tamaños.
- Bolsas de material plástico estériles de diversos tamaños.
- Pipetas estériles de 1,5 y 10 ml.
- Asas de cultivo calibradas.

7. PROCESAMIENTO

7.1. CONSIDERACIONES PREVIAS

Los implantes ortopédicos son muestras únicas y de difícil obtención, por lo que deberán extremarse las precauciones durante todo su procesamiento. Hay que tener en cuenta que los organismos responsables de infección articular son miembros habituales de la microbiota de la piel, por lo que las violaciones de la normas de asepsia durante su procesamiento, pueden dar lugar a contaminaciones que podrían confundir el diagnóstico.

7.2. TOMA DE LA MUESTRA Y CONSERVACIÓN DE LA MISMA

Los implantes osteoarticulares se obtendrán en el quirófano empleando para ello los protocolos quirúrgicos pertinentes. Tras su extracción del paciente, el implante deberá ser manejado en el quirófano con las máximas condiciones de asepsia, e introducido en contenedores o bolsas estériles que se cerrarán de la forma más hermética posible.

Los implantes así guardados se enviarán inmediatamente para su procesamiento en el laboratorio de microbiología. En el caso de que dicho procesamiento no pueda llevarse a cabo se conservarán a 4º C hasta su procesamiento.

7.3. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Una vez en el laboratorio, la muestra se introducirá en un contenedor estéril. Se recomienda que el contenedor sea un contenedor de material plástico rígido para evitar posibles soluciones de continuidad en los mismos durante la manipulación. Algunos implantes (particularmente los clavos intramedulares) tienen una longitud apreciable, por lo que es difícil poder procesarlos en contenedores rígidos. En este

caso podrán emplearse bolsas estériles de material plástico grueso, asegurándose de que no existen poros en las mismas y de que no hay roturas debidas a la manipulación de la muestra. Si las muestras llegasen desde el quirófano en contenedores de material plástico rígido estériles herméticamente cerrados, podrán emplearse éstos directamente.
Se añadirá en el contenedor o la bolsa una cantidad variable de tampón PBS estéril, nunca superior a 400 ml ni inferior a 50 ml. Tras añadir el tampón, el contenedor o la bolsa se cerrarán herméticamente y se introducirán en un sonicador de baño en el que se habrá añadido agua destilada suficiente para cubrir el recipiente, sin que éste llegue a flotar. Una vez introducido, se sonicará la muestra durante 5 minutos.
Tras retirar la muestra, se centrifugará el sonicado a 3000 x g durante 20 minutos. Posteriormente, se decantará el sobrenadante, y el sedimento se resuspenderá en 1/10 del volumen centrifugado de PBS estéril. Una vez resuspendido, se procederá a la siembra del mismo y a la realización de una tinción de Gram.

7.4. MEDIOS DE CULTIVO
Se realizará una extensión para tinción de Gram del sonicado que se sembrará de forma cuantitativa en los medios de cultivo que se indican a continuación. Para la siembra cuantitativa se podrá seguir la técnica empleada en la siembra de orina mediante asas calibradas (ver Procedimiento 15 de la SEIMC: Infección urinaria), o bien mediante la inoculación en los distintos medios de un volumen controlado de sonicado y posterior siembra mediante la técnica de los cuadrantes. Los medios de cultivo empleados serán:
- Agar sangre
- Agar Chocolate
- Agar Sangre para anaerobios
- Agar McConkey/CNA
- Medio específico para crecimiento de micobacterias (es recomendable el agar Middlebrook 7H10 en placa por poderse sembrar de la misma forma que el resto de medios de bacteriología).
- Agar Sabouraud-cloranfenicol.

Los medios así sembrados se incubarán en las correspondientes atmósferas de incubación y durante los tiempos que se indican a continuación:
- Agar sangre y agar chocolate: 7 días a 37ºC en atmósfera con 5% de CO_2.
-Agar sangre para anaerobios: 7 días a 37ºC en atmósfera anaerobia (las primeras 48 horas de forma ininterrumpida).
- Agar McConkey: 24 horas a 37ºC en atmósfera normal.
- Medio para micobacterias: 15-30 días a 37ºC en atmósfera con 5% de CO_2.
- Agar Sabouraud-cloranfenicol: 30 días a 30ºC en atmósfera normal.

8. OBTENCIÓN, INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS
En la tinción de Gram se valorará la presencia de organismos (bacterias, hongos) y se informará el resultado de forma semicuantitativa (escasos/moderados/abundantes).
Se valorará todo crecimiento microbiano que se obtenga en los distintos medios. La identificación de los distintos organismos se realizará mediante los protocolos específicos aceptados. Se informarán los resultados cuantitativamente (número de UFC/ml) en el caso de sembrarse mediante asa calibrada o semicuantitativamente (escaso-moderado-abundante-muy abundante) en caso de sembrarse mediante la técnica de los cuadrantes.
La interpretación de los resultados se realizará en función del número de colonias, los medios en que crezcan los organismos y las especies recuperadas de acuerdo con lo referido en el documento científico.

9. RESPONSABILIDADES
Deben estar descritas en el manual general de organización del laboratorio de y en las fichas de descripción de los puestos de trabajo.
El procesamiento de la muestra en el laboratorio debería llevarse a cabo por personal técnico cualificado con un entrenamiento específico. La supervisión de la técnica y de los resultados emitidos deberá realizarla un facultativo especialista en Microbiología.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO
Es recomendable obtener y procesar simultáneamente al implante muestras de tejido periprotésico de acuerdo con el protocolo PNT-IOA-02 de este Procedimiento para incrementar la sensibilidad global de los resultados.
En la tinción de Gram pueden verse diversos artefactos metálicos de pequeño tamaño que un observador no experimentado podría confundir con organismos grampositivos, si bien su aspecto y morfología son diferentes de los de las bacterias.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
La limitación más importante deriva de la posible contaminación de las muestras durante su manipulación. En este sentido es de especial importancia, el control de los recipientes empleados en la sonicación del implante, puesto que la rotura del mismo puede conducir a una potencial contaminación proveniente del agua del sonicador. Esta posibilidad puede minimizarse si, además de emplear contenedores rígidos se emplea agua destilada estéril para cada sonicación, eliminándose la empleada después de la misma.
Asimismo, la muestra podría contaminarse durante su extracción y procesamiento en el quirófano, si bien este supuesto es poco probable.
Los resultados, además, podrán verse afectados por la toma de antibióticos por parte del paciente en los días previos a la cirugía. Los tratamientos prolongados son, en este sentido, los que más

repercusión podrían tener, incrementando el número de cultivos negativos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Dora C, Altwegg M, Gerber C, Böttger EC, Zbinden R. Evaluation of conventional microbiological procedures and molecular genetic techniques for diagnosis of infections in patients with implanted orthopedic devices. J Clin Microbiol 2008; 46:824–825.
2. Esteban J, Gómez-Barrena E, Cordero J et al. Evaluation of quantitative analysis of cultures from sonicated retrieved orthopedic implants in diagnosis of orthopedic infection. J Clin Microbiol 2008; 46:488–492.
3. Esteban J, Cordero-Ampuero J, Adames H et al. Evaluation of a sonication protocol for the detection of bacteria in retrieved osteosynthesis implants. 19th ECCMID. Helsinki, Abstract nº 867.
4. Trampuz A, Piper KE, Hanssen AD et al. Sonication of explanted prosthetic components in bags for diagnosis of prosthetic joint infection is associated with risk of contamination. J Clin Microbiol 2006; 44:628–631.
5. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of Infection. N Engl J Med 2007; 357:654-663.
6. Trampuz A, Zimmerli W. Diagnosis and treatment of infections associated with fracture-fixation devices. Injury 2006; 37:S59-S66.
7. Trampuz A, Zimmerli W. Diagnosis and treatment of implant-associated septic arthritis and osteomyelitis. Current Infectious Diseases Reports 2008; 10:394-403.