

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS PROCEDIMIENTOS BACTERIOLÓGICOS
PARA EL DIAGNÓSTICO DE OSTEOMIELITIS EN PACIENTES QUE INGRESAN
A LOS SERVICIOS DEL HOSPITAL GENERAL DE ACCIDENTES DEL
INSTITUTO GUATEMALTECO DE SEGURIDAD SOCIAL**

INFORME DE TESIS
PRESENTADO POR

FABIAN EDUARDO PERALTA BARRIENTOS

QUÍMICA BIOLÓGICA

Guatemala, octubre de 2004.

INDICE

I.	Resumen	4
II	Introducción	6
III	Antecedentes	8
	A. Generalidades de Osteomielitis	8
	1. Definición	8
	2. Clasificación	8
	a. Osteomielitis hematológica	8
	b. Osteomielitis secundaria a un foco contiguo de infección	9
	c. Osteomielitis como complicación de fracturas abiertas	9
	d. Infección asociada a material protésico	10
	3. Fisiopatología y Anatomía Patológica	10
	4. Etiología	11
	5. Frecuencia	12
	6. Mortalidad / Morbilidad	13
	7. Manifestaciones Clínicas	13
	8. Diagnóstico	14
	9. Diagnóstico microbiológico	16
	10. Muestra de Biopsia o Macerado óseo	17
	11 Tratamiento	17
	12 Pronóstico	18
	B. Generalidades de Hibitane	18
	1. Definición	18
	2. Información de uso	18
	3. Farmacocinética	19
	4. Aplicaciones clínicas	19
	5. Precauciones	19
	6. Mecanismos de acción / Farmacología	19
	7. Antisépsis quirúrgica	20
IV	Justificación	21

V	Objetivos	22
VI	Hipótesis	23
VII	Materiales y métodos	24
VIII	Resultados	28
IX	Discusión de resultados	35
X	Conclusiones	38
XI	Recomendaciones	39
XII	Referencias	40
XII	Anexos	43

I. RESUMEN

La osteomielitis es una entidad clínica cuya gravedad ha sido reconocida desde la antigüedad. Actualmente ha cobrado un creciente interés ya que existen varios factores que han cambiado la epidemiología, patogenia, diagnóstico, tratamiento y pronóstico de la enfermedad.

El diagnóstico de osteomielitis resulta difícil por las limitaciones tanto en los métodos por imágenes, en los exámenes rutinarios de laboratorio, así como en las técnicas microbiológicas convencionales. De éstas últimas, el macerado óseo se correlaciona mejor con los hallazgos clínicos, sin embargo la limitación principal es la de ser susceptible de contaminación por bacterias colonizantes o infectantes del tejido, en las heridas por traumatismos o en los canales fistulosos cercanos al hueso comprometido lo que incrementa el número de casos falsos positivos.

Con el objeto de mejorar las técnicas microbiológicas de aislamiento e identificación bacteriana, se efectuó el presente estudio comparando el método convencional y uno propuesto con desinfección con solución de Hibitane ® fórmula 1 al 0.5 % en alcohol etílico 88 ° del macerado óseo, durante 15 minutos, previo a su inoculación en medio de cultivo. Se analizaron 100 macerados óseos provenientes de pacientes masculinos con diagnóstico clínico de osteomielitis postraumática, encontrándose a través del parámetro estadístico kappa una concordancia moderada de 0.45 entre ambos métodos.

Se determinó que con el método directo se reporta un mayor número de casos de osteomielitis (68 %), aislándose 100 microorganismos con 18 diferentes tipos de bacterias, seguramente por la alta contaminación o colonización de las heridas postraumáticas, mientras que con la metodología propuesta existieron 55 aislamientos con 15 diferentes tipos de bacterias, encontrándose un 44 % de positividad de los casos reportados, lo que significa que el método es efectivo para la depuración del aislamiento bacteriano.

Concordando con lo reportado en la literatura, el agente etiológico de osteomielitis postraumática es *Staphylococcus aureus*. Se encontró que de las bacterias Gram negativo es *Pseudomonas aeruginosa* la más frecuentemente aislada. Se observó además que con

la metodología propuesta existe una frecuencia similar de aislamientos bacterianos entre el grupo Gram positivo y Gram negativo.

Se efectuaron modificaciones a la técnica convencional de macerado óseo tanto en el procesamiento con desinfección con hibitane, inoculación dentro del área quirúrgica, como en el tiempo de incubación de 10 días mínimo para descartar negatividad. Estas modificaciones permiten mejorar la marcha microbiológica de macerado óseo pobremente descrita en los manuales de bacteriología.

El diagnóstico correcto de osteomielitis permite un mejor aprovechamiento de los recursos de la institución, al disminuir el número de casos falso positivos, así como mejora el pronóstico y calidad de vida de los pacientes afectados.

Este estudio es eficaz por los casos positivos reportados, se recomienda su optimización a través de nuevos estudios para estandarizar la técnica y evaluar a diferentes tiempos de contacto del macerado óseo con la solución desinfectante de hibitane fórmula 1 previo a su inoculación, con el fin de evitar posibles casos falso negativos.

II. INTRODUCCIÓN

La osteomielitis es una infección del hueso ocasionada generalmente por bacterias aeróbicas. *Staphylococcus aureus* ha sido el principal agente causal, sin embargo, en los últimos años las bacterias Gram negativo han aumentando su frecuencia especialmente en lesiones postraumáticas, postquirúrgicas y por úlceras en la piel (1,2,3,8,9).

El diagnóstico de osteomielitis puede ser difícil considerando que los exámenes de laboratorio de rutina son de poca ayuda especialmente en estadíos crónicos. La radiografía convencional tiene escasa utilidad en los estadíos iniciales y la gammagrafía ósea no es específica y no esta disponible en las admisiones de urgencia. Los métodos microbiológicos también presentan limitaciones, como tener hemocultivos negativos en osteomielitis crónicas y el aspirado óseo tiene un 20 a 40 % de falsos negativos (3,5,8). Sin embargo, actualmente la biopsia ósea presenta una mayor efectividad para el aislamiento del agente causal, tal como se ha demostrado en estudios previos en el Hospital General de Accidentes del IGSS, Arévalo y colaboradores establecieron una fuerte correlación Clínico-patológica y microbiológica de osteomielitis en biopsias de tejido óseo (9).

Se ha establecido que el tejido expuesto en una lesión es susceptible de ser colonizado o infectado por microorganismos de microbiota normal de la piel, además careciendo de una técnica depurada en el manejo de biopsias óseas se hace difícil el diagnóstico correcto de osteomielitis (1,5,6,8). Por tal razón, el presente estudio pretendió validar la modificación del método bacteriológico convencional de macerado óseo, utilizando desinfección de muestras de tejido óseo con solución de Hibitane ® (fórmula I al 0.5 % en alcohol etílico al 88 %) (anexo III), para eliminar microbiota mixta colonizante externa y permitir el aislamiento del verdadero agente causal. Las características anatómicas del tejido óseo, así como la baja capacidad residual o de absorción en el tejido, que tiene gluconato de clorhexidina presente en la solución de Hibitane ® fórmula I, permiten su utilización sin dañar la estructura y microbiología interna del hueso (11-15).

Se determinó una concordancia moderada entre los métodos bacteriológicos de macerado óseo directo y el método propuesto con Hibitane ® fórmula I. Este hallazgo permite

observar que el método propuesto funciona y que los aislamientos bacterianos tienen una mayor confiabilidad para el diagnóstico de osteomielitis.

Se observó que por ambos métodos, el agente causal de osteomielitis postraumática, al igual que lo reportado en la literatura sigue siendo *Staphylococcus aureus*, sin embargo, también existieron considerables aislamientos por bacterias Gram negativo como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus mirabilis*. Además se obtuvieron casos positivos por ambos métodos para crecimiento polibacteriano, lo que difiere de la osteomielitis hematógena que generalmente es monobacteriana (9).

En el período de incubación se encontró que la mayoría de los aislamientos son de crecimiento rápido, así el mayor porcentaje correspondió al período de 24 horas, sin embargo se reportaron hallazgos a los 10 días de incubación a 36° C, contrario a los 5 días como tiempo máximo de espera para crecimiento prescrito en la literatura (12) y a los 21 días estipulados empíricamente.

El diagnóstico correcto y temprano de osteomielitis permite un adecuado tratamiento que mejora el pronóstico, disminuye la necesidad de procedimientos quirúrgicos, el riesgo de daño permanente y la frecuencia de recurrencias en el paciente. Además, mejora la utilización de los recursos institucionales (3,5).

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

1. Definición:

Osteomielitis es un proceso inflamatorio agudo o crónico del hueso, secundaria a la infección causada principalmente por bacterias piógenas, infrecuentemente de etiología tuberculosa y brucelar y de modo excepcional por hongos y otros microorganismos (1,2,3,9,19).

2. Clasificación:

Se han establecido diferentes clasificaciones de osteomielitis con implicaciones pronóstico-terapéuticas. Según el tiempo de evolución, se clasifican en agudas (menos de 2 semanas) y crónicas (mas de 4-6 semanas). Como la distinción basada en criterios clínicos no es exacta, también se consideran como crónicas las osteomielitis que, a pesar de un tratamiento adecuado, son persistentes, las recidivantes, si radiológicamente se demuestra la presencia de secuestro, las asociadas a cuerpo extraño o insuficiencia vascular y las causadas por microorganismos de desarrollo lento por ejemplo *Mycobacterium tuberculosis*.

Atendiendo al mecanismo de diseminación se dividen en hematógenas, por contigüidad, postraumáticas y posquirúrgicas, y asociadas a material protésico. Otras clasificaciones se basan en el tipo de hueso afectado (osteomielitis vertebral, de huesos planos, etc.), en la localización, en las características del hospedero (drogadicto), en la edad y en la etiología (3,9).

Las principales categorías de osteomielitis son las siguientes:

a. Osteomielitis hematógena:

Infección causada por bacterias inoculadas a través de la sangre dentro del hueso desde una fuente remota como amigdalitis, pequeñas heridas en piel, pústulas o vesículas infectadas, etc. Por lo general afecta al hueso que tiene una médula roja rica en células, de ahí que en el niño se vean afectados con mas frecuencia los huesos largos, iniciándose la infección en las venas sinusoidales metafisiarias, donde la lentitud del flujo sanguíneo y de los fagocitos favorece

el crecimiento de los microorganismos. Por el contrario, en el adulto la infección hematológica rara vez afecta los huesos largos, debido a que el tejido adiposo ha sustituido en gran parte la médula roja, por lo que se presenta con mayor frecuencia en las vértebras donde existe abundante aporte vascular (1,4,9).

b. Osteomielitis secundaria a un foco contiguo de infección:

Este tipo de osteomielitis representa una forma directa de infección ósea por una fuente exógena o por extensión de la infección por un foco infeccioso cercano, supone el mayor porcentaje de los casos de osteomielitis y es más frecuente en adultos. Entre los factores que predisponen a este tipo de osteomielitis se tienen: infección de herida operatoria, reducción abierta de fracturas, cirugía oral o infecciones dentales, neurocirugía, esternotomía con infección del cartílago costal. Aunque todos los huesos largos del cuerpo pueden estar involucrados, hay una gran incidencia sobre todo en fémur y tibia. Una categoría especial por contigüidad aparece en el contexto de enfermedad vascular periférica, y casi siempre afecta a los pequeños huesos de los pies de diabéticos adultos aislándose al igual que en úlceras por decúbito una mezcla de estafilococos, estreptococos, microorganismos entéricos y anaerobios (4,9).

c. Osteomielitis como complicación de fracturas abiertas:

Una fractura expuesta es aquella en la que los extremos óseos han penetrado la piel y salido al exterior y en la cual existe lesión de los tejidos blandos que los recubren (8).

Desde la antigüedad, las fracturas expuestas han representado un problema serio tanto para el paciente como para el médico tratante debido a la complejidad del problema y el tratamiento, así como a las complicaciones que se pueden desarrollar, incluyendo infección local, sepsis e incluso muerte (8).

Durante mucho tiempo las fracturas expuestas han sido producto de las guerras y catástrofes naturales, sin embargo con mayor frecuencia están involucrados productos de los avances tecnológicos. Más de dos tercios de las fracturas abiertas, atendidas en las emergencias de traumatología son causadas por objetos y mecanismos que fueron desarrollados en los últimos cien años, incluyendo vehículos motorizados, maquinaria pesada y heridas por armas de fuego (8).

Existen dos tipos de lesión basadas en la disipación de energía que ocurre en el momento del accidente, por un lado, las lesiones de baja energía en las que el daño es pequeño y los tejidos están viables, y por el otro las de alta energía donde hay pérdida de tejidos blandos, desperiostización, conminución severa, exposición ósea de miembro involucrado y hasta 70 % de los casos pueden estar asociados a trauma en otra parte del cuerpo (8).

La infección es una complicación local significativa de las fracturas y sobre todo de las fracturas expuestas. Existe un amplio espectro de las complicaciones relacionadas, desde supuración de un hematoma fracturario infectado, hasta la formación de un absceso osteomielítico (8).

d. Infecciones asociadas a materiales protésicos:

La incidencia de infección de materiales protésicos es de 1-4 % siendo más elevada en pacientes con artritis reumatoide, diabetes e infecciones extraarticulares, en inmunodeprimidos y en aquellos a los que precisamente se les ha practicado cirugía local previa. La mayoría de las infecciones se adquieren durante el acto operatorio o en el postoperatorio inmediato, a partir de la infección de la herida quirúrgica, siendo más rara la contaminación por vía hematogena meses u años después del recambio protésico (3,5).

3. Fisiopatología y anatomía patológica:

Iniciada la infección, se liberan enzimas que lisan el hueso, aumenta la presión intraósea, lo cual incrementa la afectación vascular favoreciendo el desarrollo de áreas óseas avasculares, denominadas secuestros; éstos actuarán como cuerpos extraños que dificultarán la curación de la infección. Cuando el pus alcanza la corteza, pueden formarse abscesos subperiósticos y estimular el crecimiento perióstico (involucros); posteriormente, la infección puede extenderse a partes blandas y ocasionar una celulitis. Alrededor de la necrosis se produce proliferación osteoblástica con formación de hueso reactivo (4,8,9).

La secuencia patogénica de la osteomielitis como complicación de fracturas fue descrita inicialmente por Gustilo, Gruninger y Paterson (8,14). Cuando ocurre un traumatismo violento, generalmente se produce interrupción de los tejidos blandos con introducción de bacterias y material extraño dentro de la herida. Las bacterias se valen de la interrupción de las barreras de

protección natural y el compromiso inmune local de los tejidos mal vascularizados para colonizarlos. Su virulencia depende de su habilidad para adherirse a los tejidos, de su patogenicidad y de su capacidad para defenderse de los ataques del sistema inmunológico del cuerpo (4,8).

Durante las primeras dos horas las bacterias invaden y se adhieren al sustrato celular y secretan una barrera protectora de glicoproteínas o exopolisacáridos resistentes a los fagocitos, los anticuerpos y el complemento, así como antibióticos. No es sino pasadas las primeras seis horas, llamadas “período de oro”, que las bacterias inician crecimiento y reproducción a ritmo exponencial. Esto puede progresar hasta el establecimiento de un cuadro clínico de infección con formación de abscesos y producción de canales fistulosos. En algunos casos se produce extrusión del sequestro, el cual es foco de la infección, sin embargo en muchos casos los fragmentos de hueso necrótico permanecen alojados localmente y perpetúan la infección (4,8).

4. Etiología:

En la osteomielitis asociada a foco de infección contigua, la microbiota infecciosa es mixta, siendo *Staphylococcus aureus* el más frecuente. Los estafilococos cuagulasa negativo, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pyogenes*, son patógenos comunes tras la implantación de dispositivos ortopédicos; estos microorganismos, así como bacilos gram negativo entéricos, micobacterias atípicas y *Mycoplasma*, pueden causar osteomielitis esternal tras la cirugía cardíaca (1,7, 8, 9).

La infección por *Pseudomonas aeruginosa* se asocia frecuentemente a heridas punzantes del pie o quemaduras térmicas, y pacientes drogadictos, las mordeduras de gato comúnmente van seguidas de infección por *Pasteurella multocida*. Se ha visto un incremento en el aislamiento de bacilos Gram-negativo en pacientes hospitalizados con daño en la piel por cirugía, uso de productos intravenosos, trauma y heridas por mordedura. La pobre higiene oral puede conducir a osteomielitis del maxilar por *Actinomyces sp*, *Capnocytophaga sp* y otros de microbiota oral particularmente anaerobios (7,8,9,13).

Infección pélvica en mujeres puede conducir a osteomielitis aeróbica o anaeróbica del hueso púbico. (10) En 1995, Arévalo y colaboradores en un estudio realizado en el Hospital General de Accidentes del IGGS, encontraron *Klebsiella pneumoniae* como agente causal más

frecuentemente aislado en osteomielitis postraumática con fractura expuesta o cerrada seguido de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (9).

En la osteomielitis postraumática es importante conocer el mecanismo e intensidad del accidente, el ambiente en el cual se produjo y el tiempo transcurrido desde la misma. Una fractura expuesta que tiene más de ocho horas de evolución y que no ha sido tratada puede considerarse infectada (8,13).

El grado de contaminación de la herida es fundamental en la evolución de la fractura. Existen estudios en los cuales se ha encontrado que hasta 60 % y 70 % de las heridas de fracturas expuestas están contaminadas en el momento de su ingreso al hospital (8,13,14,15).

La mayoría de las bacterias que se aíslan en el cultivo de ingreso, son bacterias de microbiota normal de la piel, que incluyen *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* sp, *Micrococcus*. También se encuentran contaminantes ambientales como *Bacillus* sp y *Clostridium* sp. Se ha visto que cuando los agentes aislados inicialmente son patógenos virulentos, por ejemplo bacilos gram negativo como *Klebsiella* sp, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*, las heridas y el hueso tienen mayor riesgo de infectarse (7,8)

El lugar del accidente puede orientar hacia el germen. *Clostridium perfringens* generalmente se presenta en accidentes que han ocurrido en granjas, mientras que exposición que ocurre en agua dulce puede asociarse a infección por *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophyla*. Es importante considerar que gérmenes nosocomiales también pueden ser agentes etiológicos de las infecciones en lesiones expuestas (13,15).

5. Frecuencia.

En estados Unidos la prevalencia total es de 1 en 5,000 niños menores de 13 años de vida. La prevalencia neonatal es aproximadamente 1 en 1,000. La incidencia anual en pacientes con enfermedad de Células Falciformes es aproximadamente 0.36 %. La prevalencia de osteomielitis después de traumatismo en pie puede ser tan alta como 16 % (30 a 40 % en pacientes con diabetes).

El cuadro aparece 2.5 veces mayor en varones que en mujeres y puede afectar cualquier grupo de edad. El traumatismo puede constituir un factor desencadenante, especialmente en los niños (1,2,9).

Estudios previos en el Hospital General de Accidentes del IGSS, realizados por Tobia, Arévalo, González y colaboradores, encontraron una alta incidencia de osteomielitis postraumática con fractura expuesta o cerrada en pacientes masculinos en edad productiva de 25 a 34 años siendo fémur y tibia y miembros superiores las áreas anatómicas más afectadas, además el traumatismo es frecuentemente causado por accidente de tránsito y relacionados a violencia por arma de fuego y los que ocurren en ambiente laboral (8,9,13).

Dellinger y colaboradores encontraron que las infecciones se presentan tres veces más frecuente en lesiones de miembros inferiores que en lesiones de miembros superiores. En el mismo estudio encontraron una relación directa entre la severidad de la lesión según la clasificación de Gustilo y el porcentaje de infección, así en las fracturas expuestas tipo I donde la lesión no es tan traumática se infectaron únicamente 7%, mientras que en las tipo IIIB/C en donde existe lesión extensa de tejidos blandos con desperiostización, exposición ósea y lesión vascular presentaron un 56 %. Además se encontró que en lesiones leves *Staphylococcus aureus* es el agente más frecuentemente aislado en un 43 %, mientras que en lesiones severas se obtuvo microbiota mixta donde el 67 % eran bacilos Gram negativo aeróbicos o facultativos (1,8,16.).

6. Mortalidad / Morbilidad:

La morbilidad puede ser significativa y puede incluir extensión localizada de la infección a tejidos blandos o articulaciones. La evolución a infección crónica, con dolor y discapacidad, puede llegar a la amputación de la extremidad involucrada o a infección generalizada.

Los rangos de mortalidad son bajos, a menos que esté asociada a sepsis o que exista una subyacente condición médica seria (1-4).

7. Manifestaciones Clínicas.

La osteomielitis clásica hematógena aguda se caracteriza por fiebre elevada, síntomas sistémicos, dolor local, edema, calor y eritema, pérdida de función, dificultad al movimiento, y si la infección se extiende, signos de celulitis. Es frecuente el antecedente de un traumatismo en el lugar de la lesión. La osteomielitis brucelar, tuberculosa y micótica suelen tener un curso más insidioso y con menor sintomatología local (1,3,4,9,19).

Las formas crónicas no suelen cursar con fiebre ni signos locales, excepto en los episodios de exacerbación, y se manifiestan en forma de supuración intermitente a través de una fístula cutánea, además fatiga crónica y malestar general (1,3,4,9,19).

La osteomielitis por contiguidad se presenta como complicación de la cirugía ósea, en especial tras la reducción de fracturas abiertas, generalmente de huesos largos, y con menor frecuencia tras craneotomía, colocación de prótesis, reconstrucción articular, cirugía discal y esternotomías por cirugía cardíaca. En estos casos, las manifestaciones clínicas pueden ser agudas con fiebre, dolor, supuración local, signos de mediastinitis y dehiscencia esternal, y en las formas crónicas con supuración intermitente. La osteomielitis postraumática conlleva fiebre persistente o recurrente, dolor intenso en la región operada y cicatrización deficiente, que muchas veces conlleva secreción o dehiscencia, en algunos casos la única manifestación puede ser la falta de consolidación de la fractura. En la infección debida a la introducción de una prótesis, el principio puede ser insidioso con dolor, que para manifestarse pueden pasar meses o aún años después del procedimiento quirúrgico. La osteomielitis también puede desarrollarse a partir de una infección de tejidos blandos, sobre todo en la celulitis que afectan a los pies, en las asociadas a úlceras por decúbito o después de una infección dental (1,3,9,19).

La osteomielitis por diseminación contigua de una úlcera isquémica o neuropática crónica del pie es típica del paciente con diabetes prolongada insulino dependiente o alguna enfermedad vascular, y suele localizarse en los metatarsianos o en la porción proximal de las falanges. Se caracteriza por celulitis local con inflamación y necrosis, pero el dolor es variable por la presencia frecuente de neuropatía sensorial (1,9,19).

8. Diagnóstico:

El diagnóstico puede ser difícil, sin embargo es necesario confirmar la región ósea afectada e identificar al microorganismo causal. Hay que distinguir la infección ósea de una artritis o bursitis séptica, celulitis, abscesos de los tejidos blandos, fractura y neoplasia, así como de los infartos óseos que se observan en la hemoglobinopatía de células falciformes y en la enfermedad de Gaucher. Para delinear la anatomía de la infección ósea se recurre a estudios radiológicos que en estadios iniciales suelen ser de escaso valor pues las alteraciones óseas no se detectan hasta

transcurridos 7 a 10 días. La reacción perióstica, con edema de tejido blando, la irregularidad en la corteza y desmineralización con formación de secuestro pueden ser visibles.

En la osteomielitis crónica y de foco contiguo los cambios radiográficos son más exactos. Un diagnóstico fácil de osteomielitis puede ser llevado a cabo con imágenes por Gammagrafía realizada con difosfonatos marcados con Tecnecio 99, citrato de galio, leucocitos o inmunoglobulinas marcadas con Indium 111. Aunque estos estudios pueden ser definitivos, pueden ser también negativos debido a la disminución del flujo sanguíneo. Las imágenes positivas son difíciles de interpretar y requieren correlación clínica. La resonancia Magnética y Tomografía Computarizada pueden ser mejores que las radiografías convencionales definiendo la extensión del daño óseo y abscesos en osteomielitis, sin embargo no distinguen entre osteomielitis y tumor o fractura en fase de consolidación. En un estudio realizado con Ultrasonido se encontró una sensibilidad y especificidad del 100 % para el diagnóstico de osteomielitis aguda hematógena de huesos largos en el paciente pediátrico (3,4,5,9,19,).

En los exámenes de laboratorio la velocidad de sedimentación eritrocitaria está elevada en la mayoría de los casos de osteomielitis activa, incluyendo aquellos en que no existen síntomas generales, sin embargo, en osteomielitis crónica suele ser normal, el recuento de leucocitos puede ser elevado, pero frecuentemente es normal. La proteína C reactiva usualmente está elevada y no es específica pero asociada con la velocidad de sedimentación se constituyen en una alternativa factible, cuando por falta de recursos necesarios, no se tenga un método más específico para el seguimiento de la infección ósea (1,3,4,9,17,19).

Para establecer el diagnóstico definitivo de la osteomielitis deben estar presentes 2 de los 4 siguientes criterios:

- a. Aspiración de material purulento de hueso afectado
- b. Hallazgos positivos en cultivo de tejido óseo y hemocultivos
- c. Hallazgos físicos clásicos localizados de sensibilidad ósea, tejido blando con eritema o edema
- d. Estudios radiológicamente positivos (1,9,10).

En algunos casos, la única manera de hacer el diagnóstico puede ser el examen histopatológico por medio de la biopsia de hueso donde podemos encontrar cambios como

muerte de osteocitos, evidencia de inflamación aguda o crónica, o formación de nuevo hueso. Este método es de los más específicos para el diagnóstico de osteomielitis (4,9).

9. Diagnóstico Microbiológico:

La osteomielitis bacteriana es confirmada por la identificación del patógeno causal en el hueso y sangre. Sin embargo, osteomielitis crónica es raramente acompañada por una bacteremia excepto en respuesta a una extensión aguda de infección dentro del tejido blando.

Hallazgos en cultivo por aspiración de muestras del lugar infectado son positivos en el 75 % de los casos. Hemocultivos son positivos únicamente del 25 % al 50 % de pacientes con osteomielitis hematógena, pero son útiles en menos del 10 % de los demás tipos de infección ósea, por el contrario el cultivo de las heridas abiertas, las úlceras cutáneas o los trayectos fistulosos en la piel, no muestran al microorganismo óseo verdadero incluso a pesar del crecimiento de uno o varios microorganismos debido a que pueden colonizarse con bacterias que se encuentran presentes en la piel pero no en hueso infectado.

En los enfermos con úlceras cutáneas crónicas profundas a partir de las cuales la infección se ha diseminado hacia el hueso, el cultivo con legrado de la base de la úlcera se correlaciona con el tejido óseo en 75 % de los casos. El cultivo del material aspirado del hueso y la biopsia resulta positivo en 70 a 93 % de los casos y debe buscarse (por vía percutánea o por desbridamiento quirúrgico) cuando no existen úlceras cutáneas y el diagnóstico microbiológico no se ha establecido. En aquellos pacientes que se sospecha osteomielitis vertebral, tras haber cultivos sanguíneos negativos, deberán someterse a una aspiración con aguja del espacio del disco intervertebral si este parece infectado, o una biopsia ósea abierta durante la cirugía.

En 1996 Arévalo y colaboradores encontraron una fuerte correlación entre el estudio anatomopatológico de biopsias ósea y cultivos positivos de macerado óseo con desinfección previa con hipoclorito de sodio en pacientes con osteomielitis. Tobia y colaboradores (1996) en el estudio sobre la utilidad del cultivo de ingreso en pacientes traumatizados recomienda tomar macerados óseos como rutina en fracturas expuestas con un período de evolución de 8 hrs. previo a su ingreso al hospital, a quienes se les efectúen múltiples lavados y desbridamientos o a quienes se les retire material por “rechazo de material” (1,3,4,9,13).

10. Muestra de biopsia o macerado óseo

De las muestras que representan mayor efectividad para el diagnóstico de osteomielitis está el macerado o biopsia ósea, técnica por medio de la cual se logra el aislamiento, identificación y susceptibilidad antimicrobiana de los agente etiológicos. La biopsia se obtiene quirúrgicamente después del desbridamiento.

Una pequeña pieza de hueso infectado es enviado al laboratorio de microbiología en un contenedor estéril para la determinación del agente etiológico de la osteomielitis . Es muy difícil triturar el hueso, sin embargo el tejido óseo en ambiente infeccioso puede ser blando y necrótico y la trituración en mortero y pistilo puede proveer fragmentos pequeños. Fragmentos de hueso pueden ser colocados en caldo nutritivo para crecimiento y formar una suspensión bacteriana. Algunas veces es posible realizar raspados de hueso y el material es directamente colocado en el medio de cultivo. Si se precisa el análisis para anaerobios , toda la manipulación debe ser realizada en una cámara anaeróbica. Si tal ambiente no es posible, el microbiólogo deberá trabajar dentro de una campana bacteriológica rápidamente para inocular medios para anaerobios. Cuando los cultivos bacterianos tradicionales son negativos y persisten los signos de infección deben tomarse nuevas muestras y cultivarlas en medios especiales para micobacterias, hongos y otros (3,7,19).

Según el manual de procedimientos para microbiología clínica los medios que se pueden emplear para el crecimiento de bacterias aeróbicas para tejidos en general son Agar sangre de Carnero, Chocolate CO₂, McConkey, MS , caldo nutritivo y Tinción de Gram (7,11).

11. Tratamiento

Solamente se administran antibióticos una vez tomadas las muestras adecuadas para cultivo. Cuando es necesario, el tratamiento empírico se guía por los hallazgos de una tinción de Gram de una muestra de hueso o de un absceso, o se selecciona para cubrir los patógenos mas probables.

Los antibióticos seleccionados deben ser bactericidas contra el o los microorganismos aislados del hueso o de la sangre, y en la mayoría de los casos deben administrarse por vía intravenosa en dosis tan elevadas como las utilizadas en el tratamiento de la endocarditis. La duración típica del tratamiento es de 4 a 6 semanas; en algunos casos, puede ser adecuada la

administración intravenosa domiciliaria de antibióticos o el tratamiento oral. La administración oral de un fármaco como la Ciprofloxacina (750 mg cada 12 horas) ha tenido tanto éxito como la administración intravenosa de Betalactámicos. Se deben tener precauciones al utilizar estos agentes como tratamiento único de la infección por *S. aureus* o *P. aeruginosa*, debido a que se puede desarrollar resistencia durante el tratamiento. En pacientes tratados por vía oral se deben medir las concentraciones séricas bactericidas mínimas (CBM) contra los aislamientos del germen responsable, para documentar el cumplimiento del tratamiento y los niveles séricos adecuados. No se conocen la potencia precisa ni la duración del tratamiento necesario para erradicar una infección ósea. Los antibióticos con actividad bactericida sérica mínima a una titulación de 1:2 son las que tienen las mayores tasas de curación. Este tratamiento se continúa durante cuatro a seis semanas y la cirugía está indicada para drenar abscesos, desbridar tejido necrótico y extirpar cuerpos extraños (1,4,19).

12. Pronóstico:

El pronóstico es variable pero marcadamente mejorado con un diagnóstico a tiempo y una intervención terapéutica agresiva. El tratamiento inapropiado de la osteomielitis aguda da lugar a recidivas y al avance de osteomielitis crónica; por tanto, es fundamental aplicar el tratamiento definitivo de la infección aguda. En vista de la presencia de focos tanto macro como microscópicos de hueso avascular, la osteomielitis crónica se cura sólo con resección radical (en ocasiones amputación). Las exacerbaciones agudas de estas infecciones crónicas y recurrentes se suprimen con éxito al desbridar los secuestros evidentes y administrar esquemas prolongados de antimicrobianos por vía parenteral y oral (1,19).

B. Generalidades de Hibitane (Clorhexidina):

1. Definición:

La Clorhexidina es un antiséptico antimicrobiano activo contra bacterias gramnegativo, grampositivo, aerobios, anaerobios facultativos y levaduras (6,22, 26, 27,28).

2. Información de uso:

Tópicamente, la clorhexidina puede ser usado como un desinfectante. El área a limpiar debe ser lavada por lo menos 2 a 3 minutos, enjuagar y secar con una toalla estéril. El

procedimiento de restregado debe ser repetido por 2 a 3 minutos mas. Como enjuague bucal, ½ onza de clorhexidina debe ser usado por 30 segundos 2 veces al día después del cepillado (6,22,30,31).

3. Farmacocinética.

La clorhexidina es pobremente absorbida hacia la piel intacta o por tracto gastrointestinal. No se acumula en el cuerpo y es poco metabolizada. La ingestión de clorhexidina en enjuague bucal es eliminada predominantemente por las heces (6,22,30,31).

4. Aplicaciones clínicas:

La clorhexidina es indicado para uso tópico en preparación de piel previo a cirugía, en heridas de piel y en limpieza general de piel, así como para la desinfección de manos de los profesionales encargados del cuidado de la salud. Oralmente, la clorhexidina esta indicada para enjuague bucal en el tratamiento de gingivitis (6,22,31).

5. Precauciones:

El principal efecto adverso de la clorhexidina es la irritación de la piel. Sordera por perforación del tímpano ha sido reportada cuando la clorhexidina ha sido instilada hacia el oído medio. En enjuague bucal, el principal efecto adverso es la coloración de los dientes (6,22,30).

6. Mecanismo de acción / Farmacología:

La clorhexidina es un antiséptico antimicrobiano que es usado como limpiador tópico o como enjuague bucal para reducir la placa bacteriana. Es una polibiguamida catiónica, droga antiséptica y antimicrobiana con actividad bactericida. La droga es una base y es estable como una sal, ha sido estudiada principalmente como gluconato de clorhexidina. A pH fisiológico, las sales de clorhexidina producen un componente cargado positivamente. El efecto bactericida de clorhexidina es como resultado de la unión de estas moléculas catiónicas a las paredes celulares y complejos extramicrobiales de las bacterias cargadas negativamente.

A bajas concentraciones puede causar una alteración en el equilibrio osmótico de la pared bacteriana con pérdida de potasio y fósforo resultando en un efecto bacteriostático. A

altas concentraciones de clorhexidina el contenido citoplasmático de la célula bacteriana precipita resultando en muerte celular (20,21,23,24,25).

7 Antisepsis quirúrgica

Un estudio prospectivo controlado realizado por Garibaldi en 1,988 reportó que el baño y el restregado preoperatorio hecho con clorhexidina al 4 % fue superior a jabones conteniendo yodo-povidona o triclocarban en la reducción de la colonización en el sitio de la incisión. Este trabajo involucró 700 pacientes quirúrgicos durante un período de 18 meses. Cultivos negativos después de la ducha fueron 43 %, 16 %, y 5 % para clorhexidina, povidona-yodo, y jabón medicado, respectivamente (28).

Por otro lado un estudio realizado por Rotter et al, prospectivo, aleatorio, de doble ciego, placebo controlado, multicéntrico, enroló 2,813 pacientes, donde se encontró que el baño de cuerpo completo hecho con clorhexidina al 4% no fue significativamente superior al placebo en la reducción de la frecuencia de infección en heridas (29).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los traumatismos constituyen una de las principales causas de osteomielitis, se presenta más frecuentemente en pacientes masculinos en edad productiva y las áreas anatómicas más afectadas son fémur, tibia y miembros superiores, además, el traumatismo es causado principalmente por accidentes de tránsito, los relacionados a violencia por arma de fuego y los que ocurren en ambiente laboral. Actualmente es una infección de difícil manejo para el clínico, tanto por sus agentes etiológicos, la utilización de antibióticos y duración de los mismos, así como por las intervenciones quirúrgicas periódicas.

De las técnicas utilizadas para el diagnóstico de osteomielitis, el macerado óseo provee la mayor efectividad. Estudios previos efectuados en pacientes con osteomielitis en el Hospital General de Accidentes del IGSS proporcionaron una fuerte correlación clínico-patológica de biopsias óseas y cultivos bacteriológicos positivos de macerados óseos.

La osteomielitis es frecuente en los pacientes internados en los servicios de Traumatología y Ortopedia por lo que es de gran importancia el diagnóstico microbiológico, por las implicaciones en el tratamiento y pronóstico de la enfermedad. Se ha establecido que los cultivos de tejido en general presentan su principal limitación de ser susceptibles de contaminarse con microbiota mixta externa y muchas veces los microorganismos aislados no representan los verdaderos agentes infecciosos de osteomielitis, aumentando de esta forma los casos falso positivos. por tal razón, el presente estudio pretende sustentar científicamente o dar validez a la desinfección del tejido óseo proveniente de hueso infectado previo a su inoculación a medios de cultivo para establecer el diagnóstico adecuado de osteomielitis. Contribuyendo a mejorar las técnicas bacteriológicas de aislamiento proporcionando un diagnóstico confiable y oportuno, que serán indispensables para un adecuado tratamiento que mejora el pronóstico de los pacientes afectados.

V. OBJETIVOS

A. General:

1. Determinar la efectividad del uso de desinfección previa con gluconato de clorhexidina al 0.5 % en alcohol etílico a 88 °GL de biopsias de tejido óseo, para mejorar el aislamiento e identificación de bacterias aeróbicas como agentes etiológicos de osteomielitis.

B. Específicos:

1. Determinar las bacterias aeróbicas mas comúnmente aisladas y su correlación con lo reportado en la literatura en muestras de macerados óseos de pacientes con diagnóstico clínico de osteomielitis.

2. Comparar los aislamientos bacteriológicos usando la metodología convencional de macerado óseo y la metodología propuesta.

3. Determinar el tiempo necesario para el crecimiento de las diferentes bacterias.

VI. HIPÓTESIS.

La técnica de desinfección con solución de Hibitane ® fórmula I al 0.5 % en alcohol etílico 88 ° de tejido óseo, previo a su inoculación en medio de cultivo, mejora la posibilidad de aislamiento bacteriano causal para el diagnóstico adecuado de osteomielitis, comparado con la técnica de inoculación directa de macerado óseo.

VII. MATERIALES Y METODOS:

A. Universo y Muestra

1. Universo de Trabajo:

Se realizó la selección de pacientes con fracturas expuestas o quienes tuvieron cirugía ortopédica durante el período comprendido de julio a noviembre del año 2003. El tamaño de la población comprendió 100 pacientes masculinos con diagnóstico clínico de osteomielitis en el Departamento de Traumatología y Ortopedia del Hospital General de Accidentes del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.

2. Muestra:

Tejido óseo obtenido quirúrgicamente de pacientes con diagnóstico sugestivo de osteomielitis

a. Criterio de inclusión de la muestra:

Pacientes adultos con manifestaciones clínicas de osteomielitis con período de evolución mayor de 2 semanas

b. Criterios de exclusión de la muestra:

Muestras de tejido necrótico

B. Recursos

1. Humanos

Tesista Eduardo Peralta Barrientos

Asesor: Lic. Guillermo Carrillo Paredes

Colaborador: Doctor González Poggio

Técnicos de laboratorio del área de Microbiología

2. Institucionales

a. Hospital General de Accidentes del IGSS

b. Laboratorio Clínico del Hospital General de Accidentes

C. Materiales

1. Equipo

Incubadora

Mechero

Campana Bacteriológica

Equipo automatizado Microscan ®

2. Reactivos

Solución de Hibitane ® fórmula 1

Solución Salina estéril al 85 %

Placas Micoscam ® PC 20 y NC 32 para identificación y antibiograma de bacterias Gram positivo y Gram negativo.

3. Materiales

Copas de Acero inoxidable

Pinzas estériles

Guantes estériles

Medios de cultivo : Agar CNA, Agar Cromocult, Chocolate, Tubos con rosca con 10 ml de Tioglicolato,

Asas de Nicromo en argolla y en punta

Gradillas

D. Metodología

1. Obtención de la muestra:

- Identificación del área a operar a través de radiografía, TAC, RM, u otro.
- Anestesia general del paciente
- Limpieza del área con jabón desinfectante.
- Incisión con bisturí
- Uso de separadores de tejido
- Desbridamiento de tejido óseo y muscular con apariencia necrótica.
- Obtención de muestras de tejido óseo con un tamaño entre 4 y 10 milímetros con gubia o martillo y cincel del área mas indicativa de infección. (Los fragmentos grandes pueden cortarse con cizallas).
- Colocación de fragmentos en copa de acero inoxidable estéril

2. Proceso bacteriológico:

- a. De cada paciente se obtuvieron asépticamente 4 fragmentos como mínimo, o más cuando fue posible, según el sitio anatómico comprometido de tejido óseo del área elegida, (no material necrótico) y se colocaron en copa de acero inoxidable estéril. Se procesaron los fragmentos dentro del área quirúrgica de la siguiente forma:
- b. Se colocaron 2 fragmentos como mínimo o más cuando fue posible, con una pinza estéril directamente a un tubo conteniendo caldo de tioglicolato, se rotuló el tubo escribiendo los datos del paciente y anotando “Directo”.
- c. Se colocaron 2 fragmentos como mínimo o mas cuando fué posible, con pinza estéril en una copa de acero inoxidable conteniendo solución de Hibitane® fórmula 1, durante 15 minutos. Se descartó el Hibitane y se reposaron los fragmentos en solución salina estéril por 15 minutos más. Por último con una pinza estéril se colocaron los fragmentos en un tubo que contenía caldo de tioglicolato. Se rotuló el tubo escribiendo los datos del paciente y se anotó “hibitane”.-
- d. Se transportaron cuidadosamente los tubos con las muestras al Laboratorio Clínico lo más pronto posible

3. Procedimiento:

- i. Los tubos conteniendo las muestras se incubaron a 36 °C durante 18 a 24 horas.
- ii. Luego de ese período se homogenizó el contenido de los tubos y de la suspensión se inocularon a medios de Colistina Acido Nalidixico (CNA), Cromocult y Chocolate.
- iii Se incubaron las placas a 36 ° C durante 24 horas.
- iv. Si hubo crecimiento bacteriano en las placas, se realizó la identificación y susceptibilidad antimicrobiana en equipo automatizado Microscan.
- v. Si no había crecimiento bacteriano en la placas se reincubaron los tubos y se realizaron resiembras a los 10 y 20 días, después de la toma de la muestra. Para los cultivos positivos se procedió como en los incisos ii, iii y iv.
- vi. Si después de 20 días no había crecimiento bacteriano el cultivo se consideró negativo y se reportó así : Cultivo de macerado óseo negativo a los 21 días de Incubación.
- vii. Los resultados se anotaron en el libro de reporte de Bacteriología.

4. Diseño de la investigación:**a. Tipo de Estudio:**

Prospectivo

b. Análisis de datos:

Se compararon las técnicas bacteriológicas de macerado óseo, una con desinfección previa con Hibitane fórmula 1 de tejido previo a su inoculación a medio de cultivo y otra utilizando la técnica convencional o directa. La variación de los datos de tipo nominal positivo o negativo para crecimiento bacteriano, se vaciaron en una tabla de contingencia de 2 por 2 y la medición de la concordancia entre las dos técnicas se estableció por el parámetro estadístico Kappa ($K = (O - C) / (I - C)$), donde:

O = Concordancia Observada y

C = Concordancia por Probabilidad

El resultado se comparó con la tabla de Fleiss (anexo I).

VIII. RESULTADOS:

El Hospital General de Accidentes del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social atiende un gran número de pacientes con diferentes traumatismos, dentro de los cuales los que evolucionan con mayor frecuencia a osteomielitis son aquellos con traumatismos severos ocurridos en ambiente laboral, por armas de fuego y principalmente por accidentes de tránsito.

Las muestras fueron tomadas en salas de operaciones donde también se realizó el procesamiento e inoculación en medio de cultivo tanto para el método directo como para el método de Hibitane con objeto de evitar errores tanto en la manipulación como en el tiempo de procesamiento de la muestra.

Los resultados obtenidos fueron tabulados y graficados para una adecuada interpretación. Se determinó a través del parámetro estadístico Kappa una concordancia de 0.45 que corresponde según la interpretación de la tabla de Fleiss a una concordancia moderada entre los dos métodos bacteriológicos (ver tabla 1 y anexo 2). Este resultado es esperado considerando la modificación del procedimiento con desinfección del macerado óseo previo a la inoculación en medio de cultivo, lo que contribuyó a disminuir la carga bacteriana colonizante y por lo tanto, obtener menos cultivos positivos que cuando se analizan por métodos directos.

Tabla 1. Análisis de concordancia entre dos métodos bacteriológicos utilizados para el diagnóstico de osteomielitis en muestras de macerados óseos
(N = 100)

METODO	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
DIRECTO	68	32	100
HIBITANE	44	56	100
AMBOS METODOS	41	30	71

Fuente: Datos experimentales, Concordancia por casualidad 0.47, concordancia observada 0.71, concordancia más allá de la casualidad 0.24, potencial de concordancia más allá de la probabilidad $k = 0.45$, formula: $K = (O-C) / (1-C)$

Se encontró un 68 % de casos positivos para crecimiento bacteriano por método directo contra un 44 % con método de Hibitane, este hallazgo es considerablemente importante puesto que con método directo se reportan un mayor número de casos que podrían estar sujetos a contaminación con bacterias de tejido vecino al área anatómica evaluada lo que conlleva a obtener un mayor número de casos falsos positivos (ver tabla 2 y anexo 4).

Tabla 2. Positividad para crecimiento bacteriano en 100 macerados óseos analizados por dos métodos bacteriológicos para el diagnóstico de osteomielitis.

Macerados óseos	Método directo	Método Hibitane
	%	%
Positivos	68	44
Negativos	32	56
Total	100	100

Fuente: Datos experimentales.

Se observó la presencia de aislamientos con más de una bacteria en el estudio microbiológico de macerados óseos analizados por métodos diferentes, encontrándose un 36 por ciento en el método directo de los 69 casos positivos para crecimiento bacteriano y un 25 por ciento en el método con Hibitane de los 44 casos positivos para crecimiento bacteriano.

Se reportó un mayor porcentaje (36.2 %) de aislamientos polibacterianos cuando se analizaron los macerados óseos por método directo que cuando fueron analizados por el método de Hibitane (25 %). Esta diferencia se debió seguramente a la cantidad de bacterias oportunistas presentes en tejidos expuestos lo que incrementa el número de aislamientos polibacterianos cuando son analizados por método directo, sin embargo los aislamientos en método Hibitane tienen una mayor confiabilidad pues el tejido fue sujeto a purificación por efecto del desinfectante. (Ver tabla 3, anexo 4)

Tabla 3. Cultivos de macerados óseos con mas de 1 aislamiento bacteriano obtenidos por dos métodos bacteriológicos.
(N = 100)

Aislamiento	Método Directo n	%	Método Hibitane n	%
Monobacteriano	44	63.8	33	75
Polibacteriano	25	36.2	11	25
Total	69	100	44	100

Fuente: datos experimentales, N = 100 macerados óseos procesados, n = frecuencia, % = porcentaje.

Al analizar los macerados óseos por método directo se encontró un 58 % de aislamientos bacterianos del grupo gram positivo y un 42 % del grupo gram negativo, observándose entre ambos grupos una diferencia de 16 %. Así también al analizar con el método de Hibitane se encontró un 52 % de aislamientos en el grupo gram positivo y un 48 % en el grupo gram negativo, observando un 4 % de diferencia entre ambos grupos (ver tabla 4); se considera que la diferencia fue menor con relación al método directo debido a la disminución del número de aislamientos por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativa* con el método de Hibitane (ver tabla 4 y anexo 4).

Tabla 4. Microorganismos aislados en 100 macerados óseos por grupos Gram positivo y Gram negativo

Grupo de Bacteria	Método Directo %	Método Híbitane %
Gram Positivo	58	52
Gram Negativo	42	48
Total	100	100

Fuente: Datos experimentales. Con el método directo se aislaron 58 bacterias del grupo Gram positivo y 42 bacterias del grupo Gram negativo. Con el método Híbitane se aislaron 29 bacterias Gram positivo y 26 bacterias del grupo Gram negativo

En la tabla 5 se aprecia que en el cultivo de los 100 macerados óseos por el método directo se aislaron 100 microorganismos con 18 diferentes tipos de bacterias, siendo el principal agente etiológico de osteomielitis postraumática *Staphylococcus aureus* con un 40 %, además se encontró un 7 % de aislamiento por *Staphylococcus coagulasa* negativo.

También existieron otras bacterias Gram positivo poco comunes del género *Enterococcus* y *Staphylococcus*. En el grupo de las bacterias Gram negativo corresponde a *Pseudomonas aeruginosa* el principal porcentaje de aislamiento con un 15 % seguido de *Enterobacter cloacae* con 7 % y *Klebsiella pneumoniae* con 5 % (gráfica 5 anexo 4).

Tabla 5. Frecuencia y porcentaje de aislamientos de microorganismos en macerados óseos con procesamiento directo
N = 100

No.	MICROORGANISMOS	n	%
1	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	7	7
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	40	40
3	<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	3
5	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1
6	<i>Staphylococcus warneri</i>	1	1
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	5
8	<i>Escherichia coli</i>	3	3
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	15
10	<i>Acinetobacter sp</i>	2	2
11	<i>Citrobacter freundii</i>	1	1
12	<i>Enterobacter cloacae</i>	7	7
13	<i>Proteus mirabilis</i>	3	3
14	<i>Serratia marcescens</i>	2	2
15	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1	1
16	<i>Cedecea davisae</i>	1	1
17	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1	1
18	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	2
	TOTAL	100	100

FUENTE: Datos experimentales. N = 100 macerados óseos procesados, No. = número de microorganismos aislados, N = frecuencia, % porcentaje

En la tabla 6 se puede observar que en el procesamiento de los macerados óseos con la técnica de desinfección con Hibitane existió una reducción en la frecuencia de microorganismos, aislándose un total de 55 con 15 diferentes tipos de bacterias, dentro

de las cuales también se encontró un mayor porcentaje de casos por *Staphylococcus aureus* en un 38 %. A diferencia del método anterior no se reportaron casos por *Staphylococcus coagulasa* negativo. En el grupo de las bacterias Gram negativo siempre existió predominio por *Pseudomonas aeruginosa* en un 14.5 % seguido de *Enterobacter cloacae* con 12.7 % y *Proteus mirabilis* en un 5.4 %. Además se reportaron casos por bacterias poco comunes como *Cedecea davisae* con 3.6 %, *Serratia marcescens* con 1.8 % y *Morganella morganii* con 1.8 % (gráfica 6 en anexo 4).

Tabla 6. Frecuencia y porcentaje de aislamientos de microorganismos en macerado óseo con procesamiento con Hibitane (N = 100)

No.	MICROORGANISMOS	N	%
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	21	38.0
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	9.0
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1.8
4	<i>Staphylococcus warneri</i>	1	1.8
5	<i>Micrococcus</i> sp	1	1.8
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	14.5
7	<i>Enterobacter cloacae</i>	7	12.7
8	<i>Proteus mirabilis</i>	3	5.4
9	<i>Serratia marcescens</i>	2	3.6
10	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1	1.8
11	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1.8
12	<i>Cedecea davisae</i>	1	1.8
13	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1	1.8
14	<i>Morganella morganii</i>	1	1.8
15	<i>Escherichia coli</i>	1	1.8
TOTAL		55	100

FUENTE: Datos experimentales, N = 100 macerados óseos procesados, No.= orden en el tipo de microorganismos aislados n = frecuencia, % = porcentaje

Se considera a las bacterias aisladas de crecimiento rápido, puesto que en el tiempo de crecimiento bacteriano correspondiente a un día se obtuvo tanto en el método directo (69 %) como en el de Híbitane (72 %) el mayor porcentaje de los casos analizados. Además apareció para el período de incubación de 2 días un porcentaje del 22 % para el método directo y un 18 % para el método de Híbitane. Así mismo para los 10 días del período de incubación se encontró un porcentaje del 9 % para ambos métodos, considerando este hallazgo muy importante en virtud que la literatura consultada no tomaba en cuenta la posibilidad de crecimiento a este período de incubación, pudiéndose haber reportado en el pasado casos falsamente negativos. Finalmente no se presentó crecimiento bacteriano a los 20 días de incubación (ver tabla 7 y anexo 4).

Tabla 7. Frecuencia de crecimiento bacteriano en cultivos de macerados óseos a diferente tiempo de incubación utilizando dos métodos bacteriológicos diferentes (N = 100)

TIEMPO	METODO DIRECTO		METODO HIBITANE	
	N	%	n	%
1 día	47	69 %	32	72 %
2 días	15	22 %	08	18 %
10 días	6	9 %	04	9 %
20 días	0	0 %	0	0 %
TOTAL	68	100 %	44	100 %

Fuente: Datos experimentales, N = número de macerados óseos, n = frecuencia, % porcentaje

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Con el fin de mejorar la marcha microbiológica para el manejo de muestras de tejido óseo se introdujeron modificaciones a la técnica convencional, así, para la solicitud del examen se prefirió la utilización del término “Cultivo de macerado óseo” que cultivo de biopsia o tejido óseo pues estos dos últimos términos son empleados mas para estudios histopatológicos. Además, con el fin de evitar contaminación en la manipulación del macerado óseo se efectuó la toma de la muestra, procesamiento de desinfección e inoculación dentro del área quirúrgica, también no se consideró recomendable la utilización de mortero y pistilo; por último, se prolongó mas el tiempo de incubación a 10 y 20 días máximo por experiencias empíricas realizadas previamente.

La concordancia estadística según el parámetro estadístico kappa fue de 0.45 que corresponde a una concordancia moderada entre ambos métodos. Este hallazgo esta condicionado por dos limitaciones en las metodologías: En el método directo la alta positividad de los casos se debe a que los macerados óseos se pueden contaminar con bacterias colonizantes o infectantes del tejido circunvecino al hueso afectado y por lo tanto, no representen realmente las bacterias presentes en el interior del hueso, lo que aumenta el número de casos falsamente positivos. En el método con Hibitane la disminución en la positividad puede deberse al tiempo prolongado de exposición del macerado óseo dentro de la solución desinfectante que fue de 15 minutos, no obstante, los casos positivos reportados por este método son confiables pues la probable contaminación con microbiota externa fue eliminada por efecto del desinfectante.

El 44 % de positividad para crecimiento bacteriano encontrado con la utilización del método propuesto con desinfección con Hibitane ® del macerado óseo previo a su inoculación a medio de cultivo nos permite afirmar que el método funciona y los hallazgos son mas confiables de un diagnóstico adecuado de osteomielitis.

Existieron casos positivos con aislamientos polibacterianos que pueden deberse a los ambientes donde ocurren los traumatismos, colonización y/o infección de los canales fistulosos así como el descuido en la curación de las heridas posquirúrgicas y/o

postraumáticas. Es importante señalar que el sobrecrecimiento bacteriano puede ocultar el verdadero agente etiológico de osteomielitis tal como ocurrió con el aislamiento de *Morganella morganni* solo en el método con hibitane y no en el método directo pues en éste último hubo sobrecrecimientos de otras bacterias colonizantes.

En el análisis de aislamientos por grupos de bacterias Gram positivo y Gram negativo se determinó que por el método directo existe un mayor porcentaje del grupo Gram positivo, seguramente debido a la mayor presencia del género *Staphylococcus*, cuya distribución en el ambiente es mayor que cualquier otra bacteria. Cuando se analizaron los macerados óseos por el método con desinfección con Hibitane, se determinó que la diferencia entre los 2 grupos es menor dado a la eliminación de bacterias colonizantes pertenecientes a la microbiota externa.

Se determinó que por ambos métodos *Staphylococcus aureus* es el principal agente etiológico de osteomielitis postraumática, el predominio de esta bacteria en ambos métodos se debe a su amplia distribución en el cuerpo humano y ambiente externo. Además es importante apreciar que también existieron otros agentes Gram positivo menos comunes como *Enterococcus faecalis* y *Micrococcus*. Se observó que en los aislamientos de bacterias Gram negativo el mayor porcentaje fue para *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus mirabilis*, lo que indica que la osteomielitis post traumática comparte la etiología con aislamientos tanto por bacterias Gram positivo como por Gram negativo, este hallazgo difiere de lo reportado antiguamente donde se daba mayor predominio en el aislamiento por bacterias del grupo Gram positivo.

Algunas bacterias consideradas de microbiota normal de la piel como *Staphylococcus epidermidis* y *Micrococcus* fueron aisladas con el procesamiento con Hibitane por lo que su presencia tiene una mayor confiabilidad para el diagnóstico definitivo de osteomielitis pues su presencia no es superficial o por contaminación sino que realmente están en el interior del hueso.

Se encontró una reducción en la frecuencia de aislamientos por *Staphylococcus aureus* de 40 en el método directo a 21 en el método con Hibitane, además no existieron casos de *Staphylococcus* coagulasa negativo en el método de Hibitane, debido a que fueron eliminadas por efecto del desinfectante, sin embargo si se hubieran tenido aislamientos luego

de la desinfección previa del tejido tendrían un valor diagnóstico clínico considerable tal como ocurrió con casos por otras bacterias del género *Staphylococcus* y *Micrococcus*.

En el período de incubación se determinó que la mayoría de los aislamientos son de bacterias de crecimiento rápido puesto que el mayor porcentaje se obtuvo a las 24 y 48 horas de incubación. Se encontró un porcentaje considerable de casos de crecimiento a los 10 días de incubación probablemente ocasionado por la dureza del tejido que retardó el contacto de la bacteria con el medio líquido de tioglicolato, este hallazgo es considerablemente importante puesto que en la literatura se ha reportado como tiempo máximo de incubación de 5 días, reportándose por consiguiente un mayor número de casos falsamente negativos. Finalmente no se encontró ningún caso de crecimiento a los 20 días de incubación.

El presente estudio proporciona aportes importantes en el mejoramiento de la marcha microbiológica de macerado óseo para el aislamiento e identificación bacteriana, permitiendo un adecuado diagnóstico y tratamiento de la osteomielitis postraumática. La técnica puede optimizarse a través de la estandarización del tiempo de contacto del macerado óseo con la solución desinfectante de Hibitane fórmula I, evaluándose de 3 a 6 minutos máximo, considerando que el principio activo del gluconato de clorhexidina tiene un tiempo mínimo de acción aproximado de 3 minutos.

X. CONCLUSIONES

1. El método propuesto de desinfección previa con Hibitane del macerado óseo permite una confiabilidad mayor en el aislamiento e identificación bacteriana para el diagnóstico correcto de osteomielitis postraumática dado que se encontró positividad para el crecimiento bacteriano en el 44 % de los casos evaluados.
2. Se determinó por el método directo un mayor porcentaje de aislamientos bacterianos (68 %), coincidiendo con lo reportado previamente en la literatura sobre la susceptibilidad de los tejidos de ser colonizados con microbiota externa, lo que aumenta el número de casos falso positivos.
3. Concordando con la literatura se determinó por ambos métodos que el principal agente infeccioso causante de osteomielitis postraumática es *Staphylococcus aureus*.
4. Las principales bacterias del Grupo gram negativo causantes de osteomielitis son *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus mirabilis*.
5. En el análisis por grupo de bacterias aisladas se estableció que la osteomielitis postraumática comparte la etiología en un porcentaje similar entre el grupo gram positivo y el grupo gram negativo, principalmente cuando se analizaron con la metodología propuesta.
6. El aislamiento polibacteriano en la osteomielitis postraumática obedece a la exposición del tejido al ambiente y difiere de la osteomielitis hematógena que generalmente es monobacteriana.
7. La mayoría de bacterias aisladas en macerados óseos fueron de crecimiento rápido a un período de incubación por ambos métodos de 24 a 48 horas a 36 °C.
8. Con ambos métodos se encontró un 9 % de aislamiento bacteriano en macerado óseo a un período de incubación de 10 días, considerándolo tiempo máximo de espera para descartar positividad para osteomielitis.
9. Por las limitaciones en los métodos evaluados, existió concordancia estadística moderada de 0.45, entre el método convencional o directo de macerado óseo y el método de desinfección previa con Hibitane fórmula 1.

XI. RECOMENDACIONES

1. Para la optimización de la técnica propuesta de desinfección del tejido óseo, se recomienda efectuar estudios complementarios para estandarizar el tiempo en el cual el macerado óseo deberá permanecer dentro de la solución desinfectante de Hibitane fórmula 1, considerando que los 15 minutos empleados en este estudio podrían ser una limitante que disminuya el número de casos positivos para el crecimiento bacteriano. El tiempo podría oscilar entre 3 y 6 minutos, tomando en cuenta que el principio activo gluconato de clorhexidina actúa en un tiempo mínimo de 3 minutos.
2. Se recomienda no macerar el tejido óseo con mortero y pistilo, sino que desinfectar el fragmento óseo con Hibitane fórmula 1 y luego inocular sin macerar en el tubo con tioglicolato.
3. Incluir dentro de la información en la boleta de solicitud de laboratorio del cultivo de macerado óseo, los datos generales del paciente, el sitio anatómico comprometido la terapia antibiótica previo a la toma de la muestra, el diagnóstico clínico con el fin de correlacionar o fundamentar los hallazgos en los cultivos.
4. Concienciar permanentemente al personal médico y paramédico (instrumentistas y circulantes) sobre la importancia de guardar las medidas de bioseguridad en cuanto a la toma de la muestra del macerado óseo para garantizar la calidad de los resultados.

XII. REFERENCIAS

1. Randall King, Osteomielitis. eMedicine Journal, 2,002 April Vol. 3 Number 3, 1-13
2. Sonnen, M.G y Henry, N.K. Infecciones Oseas y Articulares. Clínicas Pediátricas de Norteamérica. McGraw-Hill Interamericana, México 1996 vol.4 parte 1 Trad. Jose Rafael Blengio.
3. Teixidor, J.L.et al. Medicina Interna, Masson S.A., España, 1997, Tomo I 1675-1680
4. Isselbacher, K. Et al. Principios de Medicina Interna. Harrison. 13 va. Ed. McGraw Hill Interamericana, España: 1994 Vol. 1. pag. 651-654.-
5. Avila-Agüero, M.L., et al. Diagnóstico de osteomielitis aguda hematógena por ultrasonido en el paciente pediátrico. Anales españoles de pediatría, 1999 vol.50,No4 pag. 353-356.-
6. Bertram G. Katzung. Farmacología Médica, México: El Manual moderno 1999. pag. 951-953.
7. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's. Diagnostic Microbiology. 9th edition, St. Luis Missouri USA: Mosby 1,994 pag. 290
8. Tobia, R.M. et al. Incidencia de Osteomielitis Crónica en pacientes con antecedentes de Tratamiento intrahospitalario por fractura expuesta en una extremidad. Hospital General de Accidentes del IGSS 1996-1997.1-54
9. Arévalo, H.R. et al. Correlacion clinico-patológica y Microbiológica en pacientes con diagnostico de osteomielitis. Hospital General de Accidentes –IGSS 1995 pag.1-39
10. <http://www.encolombia.com/ortopedia2288osteomielitis2.htm>.
11. Isemberg D. Henry. Guide to Reulatory Requirements, Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM press,1995. 1.4.7, 1.4.2.-
12. Jacobs, S. David. *et al* Laboratory Test Handbook. 13rd edition. USA: Lexi-comp.inc. 1994. pag. 778

13. Tobia,R.M., et al. Utilidad del Cultivo de Ingreso en el manejo de fracturas expuestas. Hospital General de Accidentes –IGSS , 1996. pags. 1-37
14. Gustilo RB. “Ortopaedic Sepsis and osteomyelitis part IV management of infected fractures” USA: Intruccional course lectures, 1982. XXXI: (p 14-18).
15. Patzakis M:J: “Management of open fractures and complications. Part I Instructional course lectures. 1982, XXXI: 62-64.
16. Philip A. Maaackawik, M.D. et al, diagnostic value of sinus of tract cufltures in cronic osteomyelitis. JAMA 1978 jun 26 (239):2772-2774
17. González M. El valor de la Proteína C reactiva y la Velocidad de sedimentación en la infección ósea. Guatemala: Hospital General de Accidentes del IGSS. 1995, 41 p 1-41.
18. Rodas JM. Osteomyelitis post-traumática, postquirúrgica en pacientes con fractura expuesta y/o cirugía ortopédica de miembro inferior. Guatemala: Hospital General de Accidentes del IGSS. 1993, 35 p p 1-35.
19. Benet, J:C: et al. Cecifl Tratado de Medicina Interna. 20 edición, Ana María Pérez, trad. Mexico. 1996: vols.2 (p1857, 1876-1878).
20. Hugo WB & Longworth AR.: Cytological aspectos of de mode of action of clorhexidine diacetate. J Pharmacol 19968, 17:28
21. Hugo WB & Longworth AR.: Some aspects of de mode of action of clorhexidine. J. Pharmacol 1964, 16:655
22. Product information : Hibiclens ®, Clorhexidine. Astrazeneca Pharmaceuticals, Wilmington, DE, Reviewed 3/2,000
23. Brex & Theilade J: Effect of clorhexidine. Rinses on the morphology of erly dentel plaque formed on plastic film. J. Clin Periodontol 1984;11:553.
24. Hennessy TS: Some antibacterial properties of clorhexidine. J. periodont Res 1973; 8 (suppl 12): 61-67
25. Gjermo P: Clorhexidine in dental practice. J. Clin Periodontol 1974; 1:143-152.
26. Vorhrr et al: Antimicrobial effect of clorhexidine on bacterial of groin; perineum an vagina. J reprod med 1980; 24: 153-157
27. Davies A: The mode of action of clorhexidine. J. periodont Res 1973; 8 (suppl 12):68-75.

28. Garibaldi RA: Prevention of intraoperative wound contamination with chlorhexidine shower and scrub. *J Hosp Infect* 1988; 11 (suppl B):5-9.
29. Rotter ML, Larsen SO, Cooke EM et al. A comparison of the effects of preoperative whole-body bathing with detergent alone and with detergent containing chlorhexidine gluconate on the frequency of wound infections after clean surgery *J Hosp infect* 1988; 11:310-320
30. Briner WW, Groosman E, Bucker R y et al: effect of chlorhexidina gluconato mouthrinse on plaque bacterial. *J periodontal Res* 1986; 21 (suppl):44-52
31. Product information: Peridex ®, Zila Pharmaceutical Inc, Phoenix, Az, reviewed 3/2,000.
32. Dawson Saunders, B. *et al.* *Bioestadística Médica*, México: El Manual Moderno. 1993 pags.49-72.

XII. ANEXOS**ANEXO 1**

Boleta utilizada para la recolección de datos en la toma de muestra, utilizados como fuente de datos experimentales.

BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS PROCESO MICROBIOLÓGICO DE MACERADO OSEO HOSPITAL GENERAL DE ACCIDENTES IGSS	
NOMBRE: _____	EDAD _____
SERVICIO: _____	FECHA _____
AREA ANATOMICA AFECTADA _____	
TIEMPO DE EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD _____	
RECIBE ANTIBIOTICOS ACTUALMENTE: _____	
DIAGNOSTICO _____ _____ _____	
TIPO DE OSTEOMIELITIS: _____	
LABORATORIO CLINICO DEPTO. DE MICROBIOLOGIA.	

ANEXO 2

El método estadístico utilizado para el análisis e interpretación de los resultados obtenidos en la investigación en muestras de macerado óseo, utilizando dos diferentes métodos bacteriológicos para el diagnóstico de osteomielitis postraumática, fue el parámetro de análisis de concordancia Kappa.

METODO ESTADISTICO DE KAPPA:

FORMULA:

$$k = \frac{(O - C)}{(1 - C)}$$

K = Kappa

O = Concordancia observada

C = Concordancia por probabilidad

TABLA DE FLEISS:

Para realizar estudios con análisis de concordancia

VALORES DE CONCORDANCIA	INTERPRETACION
MENOR DE 0	SIN CONCORDANCIA
0 - 0.19	POBRE CONCORDANCIA
0.2 - 0.39	MEDIANA CONCORDANCIA
0.4 - 0.59	MODERADA CONCORDANCIA
0.6 - 0.79	SUBSTANCIAL CONCORDANCIA
0.8 - 0.9	CASI PERFECTA CONCORDANCIA

ANEXO III**HIBITANE FORMULA I:**

Solución desinfectante HIBITANE FORMULA I utilizada para la desinfección del tejido óseo previo a su inoculación a medio de cultivo. Producto elaborado por laboratorio de farmacia del IGSS.

Presentación: 1 galón

Cada 100 ml contienen:

Gluconato de clorhexidina al 5 %	10.0 ml.
Alcohol etílico a 88 °	52.0 ml
Agua destilada	38.0 ml

Usos de esta solución:

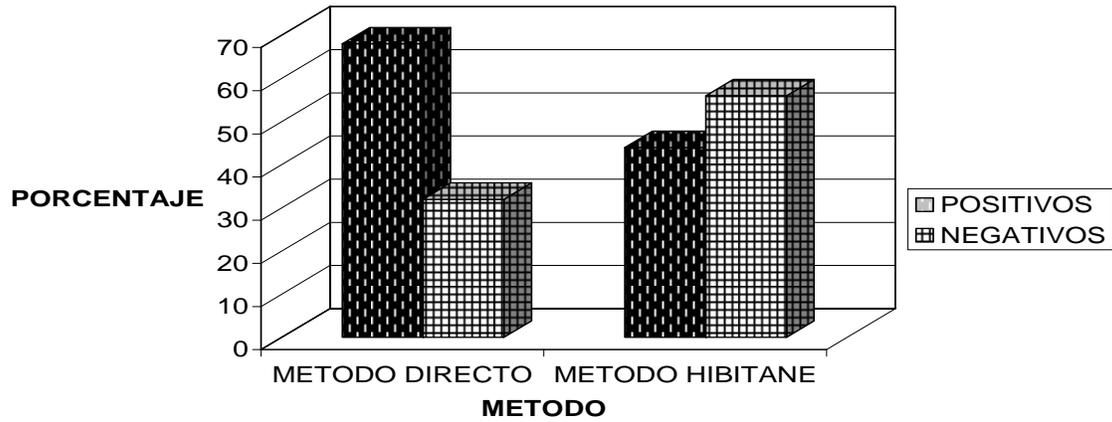
- ✓ Desinfección de la piel antes de operar.
- ✓ Desinfección de instrumentos (menos los de polivinilo, para el que se le añade a la solución, 4 tabletas de Nitrito de Sodio por galón para evitar oxidación de los mismos)

Vence: siete días después de abierto el galón.

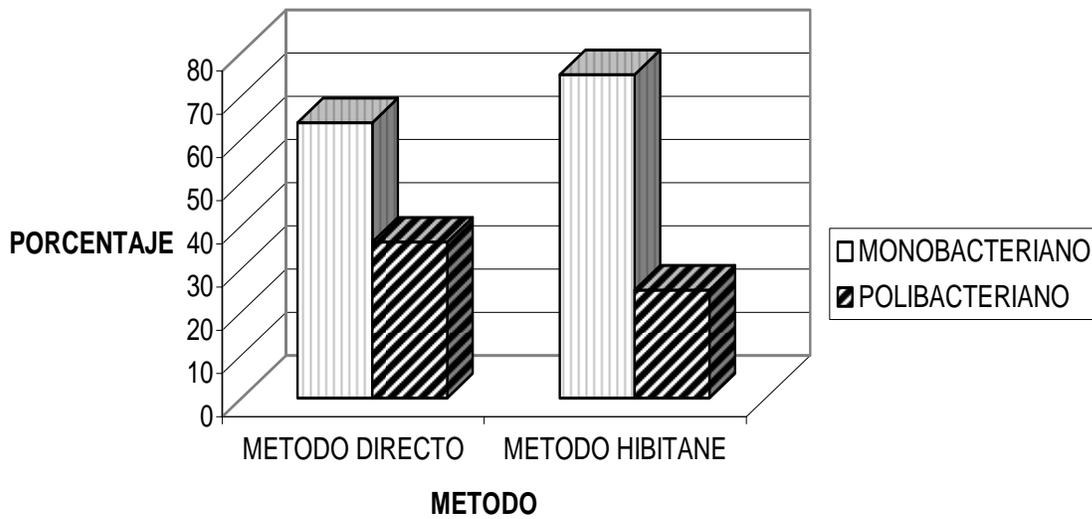
Fuente: Etiqueta colocada sobre el recipiente que contiene un galón de Hibitane Formula 1, elaborado en el laboratorio de farmacia del IGSS.

ANEXO IV

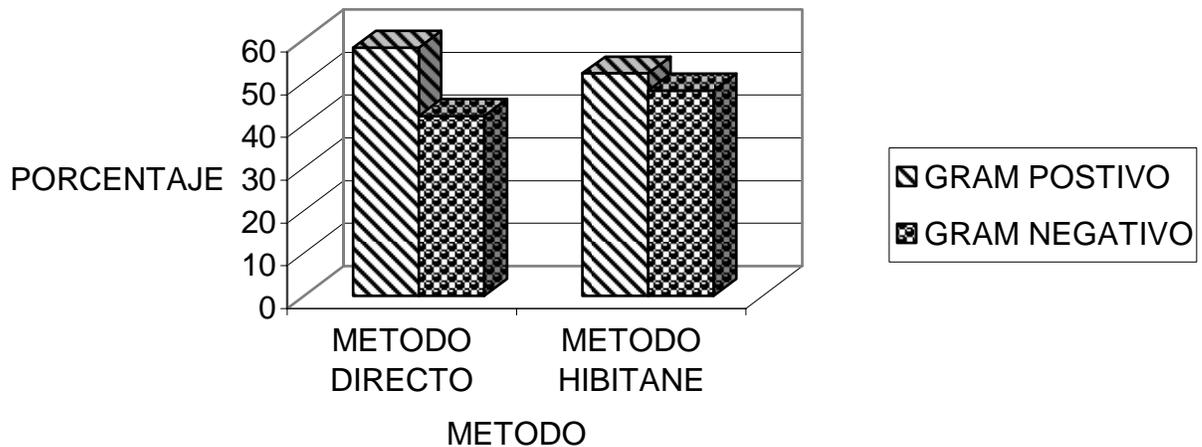
Grafica 1
 Porcentaje de positividad para crecimiento bacteriano en 100 macerados óseos analizados con dos métodos bacteriológicos para el diagnóstico de osteomielitis



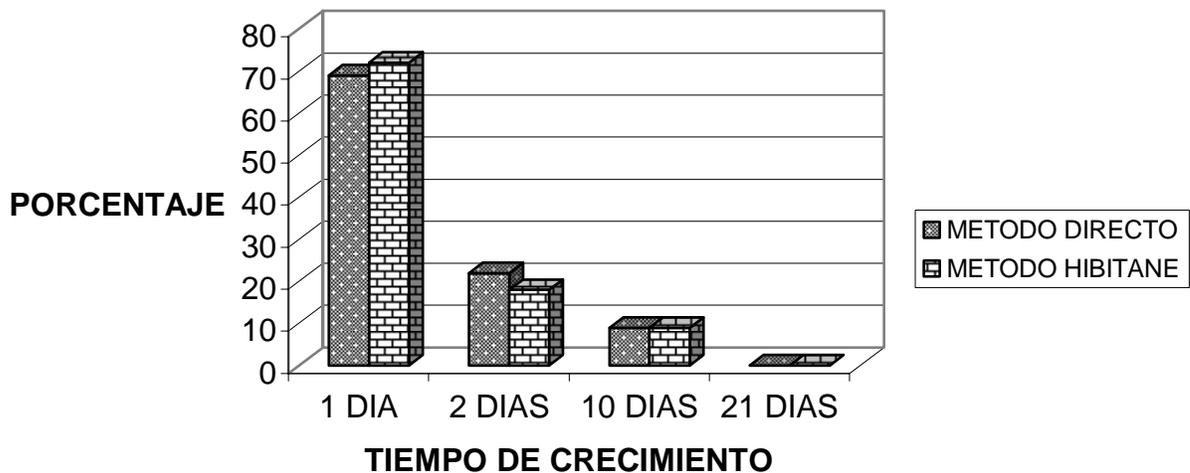
Gráfica 2
 Cultivo de macerados óseos con mas de un aislamiento bacteriano por dos métodos diferentes



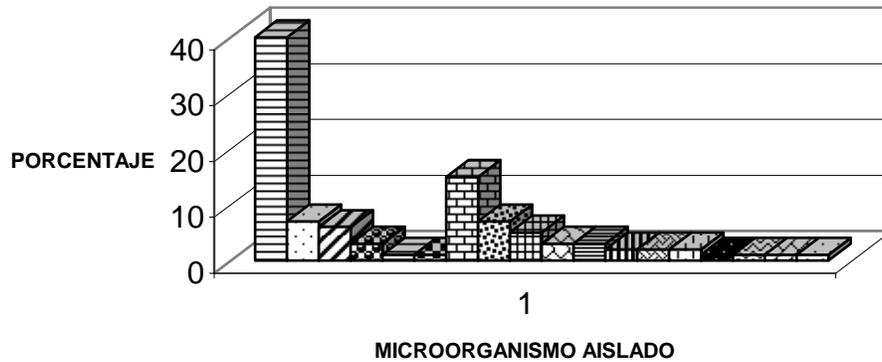
Gráfica 3
Microorganismos aislados en macerados óseos por grupos gram positivo y gram negativo método directo e hibitane



Gráfica 4
Porcentaje de crecimiento bacteriano en macerados óseos a diferentes tiempos de incubación método directo y método hibitane

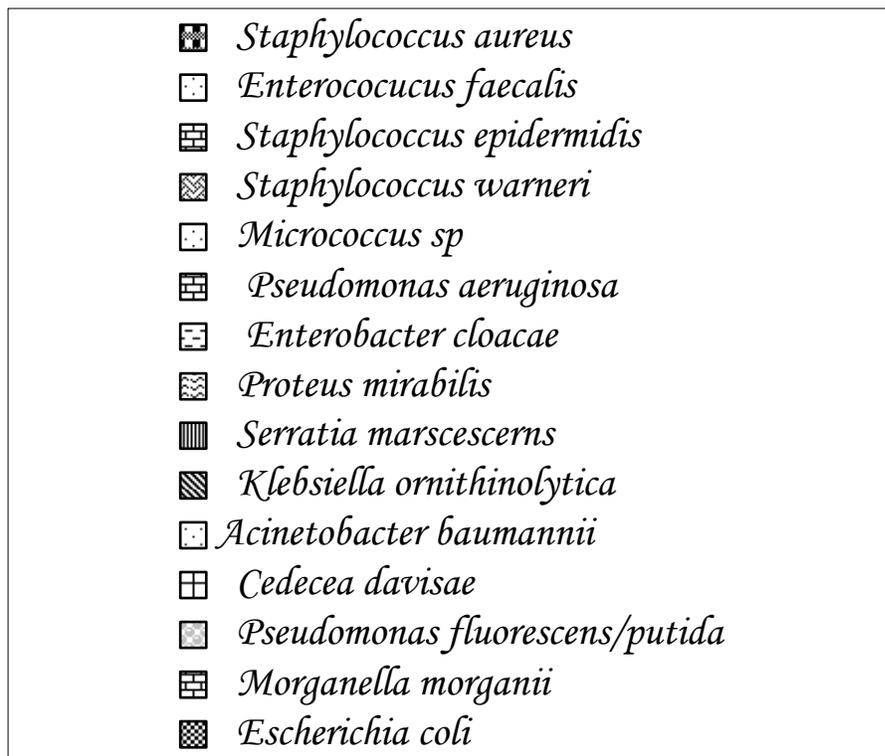
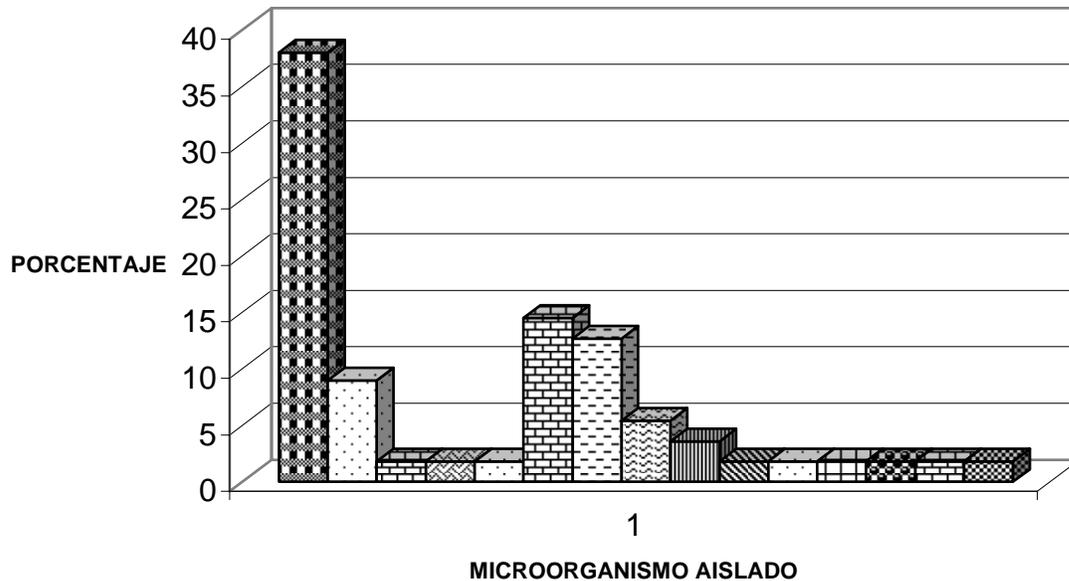


Gráfica 5
 Porcentaje de aislamiento de microorganismos
 en macerados óseos con método directo



- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus coagulasa negativa*
- ▨ *Enterococcus faecalis*
- ▩ *Staphylococcus epidermidis*
- ▧ *Streptococcus pyogenes*
- ▣ *Staphylococcus warneri*
- ▤ *Pseudomonas aeruginosa*
- ▥ *Enterobacter cloacae*
- ▦ *Klebsiella pneumoniae*
- ▧ *Escherichia coli*
- ▨ *Proteus mirabilis*
- ▩ *Acinetobacter sp*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Serratia marscescens*
- ▬ *Klebsiella ornithinolytica*
- ▭ *Cedecea davisae*
- ▮ *Pseudomonas fluorescens/putida*
- ▯ *Citrobacter freundii*

Gráfica 6
Frecuencia de aislamiento de microorganismos en macerados oseos con
metodo hibitane



FIRMAS:

Br. Fabian Eduardo Peralta Barrientos.
Autor

Lic. Guillermo Carrillo Paredes
Asesor

Licda. Alba Marina Valdés de García
Revisora

Lic. Osberth Morales
Revisor

Licda. Alba Marina Valdés de García
Directora

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Decano

