ARTICULO ORIGINAL

Rendimiento del estudio microbiológico en el diagnóstico de la infección osteoarticular

PATRICIA GARCIA C.¹, LUIS IRRIBARRA T.², VERONICA RAMIREZ M.¹, VINICIO CERVILLA V.³
RICARDO DE LA BARRA D.¹, FRANCISCO MONTIEL A.¹, CRISTIAN ORTIZ M.² y SERGIO JACOBELLI G.⁴

THE YIELD OF THE MICROBIOLOGICAL STUDY IN THE OSTEOARTICULAR INFECTION

*The osteoarticular infection (OAI) is a severe and sequeling pathology, in which early diagnosis is important for a successful outcome. The yield of microbiological study is variable (60-90%) and it depends on the infection site, the kind of sample and the microbiological methods employed. The aim of this study was to improve bacteriological confirmation through a broadened request of cultures and new strategies for transport of OAI and inoculation of samples. Patients with clinical suspicion of OAI were evaluated with direct Gram stain and cultures done in aerobiosis, Thayer Martin medium, anaerobiosis, fungal medium, mycobacteria appropriate medium and with blood cultures. All synovial fluid samples were inoculated into microbiological tubes (Becton Dickinson) and the tissue samples obtained by puncture under CT scan vision were inoculated into blood culture flasks (BacT/Alert, OT). Eighty six patients were studied and 51 finally were diagnosed as OAI. The global microbiological yield was 86%, being heigher in osteomyelitis and prosthesis infection than in septic arthritis (88, 100 and 82%, respectively). **Staphylococcus aureus** was the most prevalent pathogen, independently of OAI type, followed by **Streptococcus pyogenes** and **Streptococcus pneumoniae**. Direct Gram stain had a sensitivity of 57% and it was positive in 5 patients whose cultures showed no growth. Blood culture was the only positive method in 6 patients. The sensitivity of tissue sample obtained under CT scan and inoculated into blood culture flasks was 90%. The yield of bone or synovial tissue cultures was better than joint fluid (92 versus 69%) and the global microbiological confirmation was better in adults than in children (94% and 72%, respectively). We conclude that the implementation of microbiological tubes and direct inoculation*

Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile:

¹ Unidad Docente Asociada de Laboratorios Clínicos

² Departamento de Ortopedia y Traumatología

³ Departamento de Radiología

⁴ Departamento de Reumatología e Inmunología

in blood culture flasks are useful methods for bacterial recovery. Tissue samples must be recommended over the joint fluid sample. Direct Gram stain and blood cultures should be considered as useful methods for microbiological confirmation of OAI.

Key words: Septic arthritis; Acute osteomyelitis; Microbiology, Laboratory diagnosis.

INTRODUCCION

Las infecciones osteoarticulares son patologías graves y causantes de secuelas, que requieren un diagnóstico rápido y certero, conducentes al inicio precoz de una terapia adecuada.

La alta sospecha clínica complementada por estudios de imágenes y exámenes de laboratorio, tanto generales como del líquido articular o tejido óseo comprometido, constituyen las principales herramientas diagnósticas. El estudio microbiológico cumple un rol fundamental en la confirmación etiológica de la enfermedad ya que permite la orientación del tratamiento antimicrobiano.

El diagnóstico microbiológico (tinción de Gram directa y cultivos) en distintas series, tiene un rendimiento de 60% y en las mejores alcanza al 90%.¹ Dentro de los agentes etiológicos aislados más frecuentemente destacan *Neisseria gonorrhoeae* y *Staphylococcus aureus* en adultos y en los niños dependiendo de la edad, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Haemophilus influenzae* tipo b. En prótesis articulares se han descrito infecciones por *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Staphylococcus aureus*, bacilos Gram negativos y anaerobios²⁻⁶

En un análisis retrospectivo del estudio microbiológico de infecciones osteoarticulares realizado en el Hospital Clínico de la Universidad Católica, se encontró que la recuperación bacteriana era cercana al 60%. Problemas como un transporte inadecuado de las muestras, demora en la siembra y la búsqueda restringida de agentes etiológicos podrían haber condicionado estos resultados.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento de los exámenes microbiológicos en el diagnóstico de infecciones osteoarticulares después de estandarizar la toma de la muestra, optimizar los sistemas de cultivos y ampliar la búsqueda de agentes etiológicos.

MATERIAL Y METODO

Entre agosto de 1995 y junio de 1997 ingresaron al estudio todos los pacientes que consultaron en el Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica con sospecha clínica de infección osteoarticular.

Para cada paciente se obtuvo muestras de líquido articular, tejido sinovial y/o tejido óseo según si se sospechaba una artritis séptica o una osteomielitis aguda, respectivamente. Las muestras de líquido articular se transportaron en tubos microbiológico con polianetol sulfonato de sodio como anticoagulante (tubo microbiológico con SPS, Becton Dickinson) y además se inocularon directamente en botella de hemocultivo pediátrico del sistema automatizado BacT/Alert® (Organon Teknika). Las muestras de tejido óseo obtenidas por procedimiento quirúrgico se transportaron en un frasco estéril con solución salina fisiológica estéril y las muestras osteoarticulares obtenidas por punción percutánea bajo visión radiológica (TAC) fueron directamente inoculadas en frascos de hemocultivo pediátrico (BacT/Alert®, Organon Teknika) en caldo cerebro corazón como medio de cultivo.

Las muestras de líquido articular y de tejido osteoarticular se derivaron al laboratorio de microbiología donde se les realizó inmediatamente cultivo corriente (siembra aeróbica en agar sangre de cordero, agar chocolate y agar Mac Conkey), cultivo en medio de Thayer Martin, cultivo en anaerobiosis, cultivo de hongos y cultivo para micobacterias. La identificación microbiana y los estudios de sensibilidad se realizaron por los métodos convencionales.

En aquellos pacientes en quienes se sospechó que estaban cursando simultáneamente con una bacteremia, se obtuvo una muestra de sangre para hemocultivos. Estos se procesaron en un sistema automatizado (BacT/Alert®, Organon Teknika).

El diagnóstico de infección osteoarticular se estableció a base de la evaluación clínica con síntomas y signos sugerentes (dolor, aumento de volumen, eritema, impotencia funcional, compromiso del estado general y fiebre), estudio de laboratorio general (hemograma, velocidad de eritrosedimentación, PCR), estudio de imágenes (radiografía, cintigrafía, TAC y resonancia magnética) y respuesta clínica al tratamiento antibiótico. El conjunto de estos parámetros se consideró como *gold standard* para la evaluación del rendimiento del estudio microbiológico.

RESULTADOS

Ingresaron al estudio 86 pacientes con sospecha clínica de infección osteoarticular, cuyas edades se distribuyeron entre 1 mes y 84 años; de éstos 22 eran niños y 64 adultos. De los 86

pacientes, en 51(59%) se confirmó una infección osteoarticular y 35 (41%) presentaron alguna patología no infecciosa del aparato locomotor. En el grupo con infección osteoarticular hubo 22 artritis sépticas, 24 osteomielitis agudas y 5 infecciones de prótesis.

El rendimiento microbiológico global en la serie (Gram y/o cultivos) fue de 86% (44/51) y el rendimiento diferenciado por patologías fue de 82% para las artritis sépticas (18/22), 88% para las osteomielitis aguda (21/24) y 100 % (5/5) para las prótesis infectadas (Figura 1).

S. aureus fue el agente etiológico más frecuentemente aislado para la totalidad de las infecciones osteoarticulares (Tabla 1) y diferenciado por patología (Tabla 2). La segunda etiología observada en artritis séptica fue *Haemophilus sp*; *S.agalactiae*, *S.pneumoniae*, y *Kingella kingae* ocuparon el tercer lugar. *S. aureus* fue el causante de 50% de las

Figura 1. Rendimiento del estudio microbiológico en las infecciones osteoarticulares. Período 1995-1997.

Tabla 1. Microorganismos aislados de infecciones osteoarticulares

Microorganismo	Frecuencia de aislamiento n (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	19 (37,0)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4 (7,8)
<i>Haemophilus sp</i>	3 (5,9)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (5,9)
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	3 (5,9)
<i>Kingella kingae</i>	2 (3,9)
<i>Streptococcus</i> β hemolítico grupo C	1 (2,0)
<i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	1 (2,0)
<i>Brucella sp</i>	1 (2,0)
<i>Escherichia coli</i>	1 (2,0)
<i>Propionibacterium sp</i>	1 (2,0)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 (2,0)
Cocáceas Gram (+)s	1 (2,0)
Cocobacilos Gram (-)s	2 (3,9)
Bacilos Gram (-)s espirilados	1 (2,0)
Bacteriología negativa	7 (13,7)
Total	51 (100)

Tabla 2. Agentes etiológicos de las infecciones osteoarticulares diferenciados por patología infecciosa

Microorganismos	Frecuencia de aislamiento por patología n		
	Artritis séptica	Osteomielitis aguda	Infección de prótesis
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	12	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	2	-
<i>Haemophilus sp</i>	3	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	1	-
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	-	-	3
<i>Kingella kingae</i>	2	-	-
<i>Streptococcus</i> β hemolítico grupo C	-	1	-
<i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	-	1	-
<i>Brucella sp</i>	-	1	-
<i>Escherichia coli</i>	1	-	-
<i>Propionibacterium sp</i>	-	1	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	1	-
Cocáceas Gram (+)s	1	-	-
Cocobacilos Gram (-)s	2	-	-
Bacilos Gram (-)s espirilados	-	1	-
Bacteriología negativa	4	3	-
Total	22	24	5

osteomielitis agudas, seguido por *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* grupo *viridans*, *Brucella* sp, bacilos Gram (-)s espirilados y *Mycobacterium tuberculosis*. La primera etiología en las infecciones de prótesis correspondió a *Staphylococcus* coagulasa negativa y *S. aureus*.

De las 44 muestras con diagnóstico microbiológico, en 38 (86%) los microorganismos fueron aislados en las muestras de origen osteoarticular (líquido articular, tejido sinovial y/o tejido óseo). Sin embargo, hubo 6 pacientes (24%) con infección osteoarticular en que los microorganismos fueron aislados a partir del hemocultivo: 2 *S. pneumoniae* en pacientes adultos con artritis séptica de rodilla y muñeca, respectivamente, 2 *S. agalactiae* aislados desde pacientes adultos con espondilitis de columna dorsal y osteomielitis del sacro, respectivamente, una cepa de *Brucella* sp aislada de un paciente con espondilodiscitis de la columna cervical (C6-C7) y una cepa de *K. kingae* aislada de un niño con artritis séptica de tobillo.

En el análisis de positividad por tipo de muestra, el mejor rendimiento se obtuvo cuando la muestra derivada al laboratorio fue el tejido óseo (ya sea obtenida en pabellón o por punción bajo TAC), la positividad fue de 92% (22/24), en comparación con 69% de positividad (11/16) cuando las muestras correspondieron a líquido articular. Respecto de las muestras obtenidas por punción bajo visión radiológica (TAC), de los 51 pacientes, en 19 la muestra de tejido se obtuvo por este método, con siembra directa del tejido en botellas de hemocultivos. La confir-

mación etiológica en estos casos fue de 90% (17/19).

En los 44 pacientes con confirmación microbiológica, hubo 4 muestras que sólo fueron positivas mediante la tinción de Gram directa. Todos los cultivos efectuadas a estas muestras (aeróbico, anaeróbico, hongos, micobacterias y en botella de hemocultivo). Correspondieron a muestras en las que se observaron: bacilos Gram negativos con morfología espirilar dispuestos en "Y" y en "V", cocáceas Gram positivas en racimo y dos muestras en las que se observaron cocobacilos Gram negativos. La descripción clínica de estos pacientes se muestra en la Tabla 3.

Si los resultados se analizan diferenciados por edad, se observa que de los 51 pacientes con diagnóstico de infección osteoarticular, 18 tenían menos de 15 años y 33 eran adultos. El rendimiento global en pacientes bajo 15 años de edad fue de 72% (13/18) en comparación con 94% obtenido en adultos. Además destaca como agente etiológico el aislamiento de *K. kingae*, un bacilo Gram negativo fastidioso. (Tabla 4).

Los 35 pacientes en los cuales se sospechó una infección osteoarticular en la consulta inicial y en quienes se descartó posteriormente una patología infecciosa correspondieron a artritis por cristales (n: 6), artritis reumatoidea (n: 5), artritis seronegativas (n: 11), artrosis (n: 8) y pseudoartrosis (n: 5). En estos casos todos los cultivos excepto uno, fueron negativos (se aisló un *Staphylococcus* coagulasa negativa que clínicamente fue interpretado como contaminación).

Tabla 3. Descripción de los 4 casos cuyo diagnóstico microbiológico fue realizado sólo mediante la tinción de Gram directa

Edad (años)	Tipo de muestra	Diagnóstico	Tinción de Gram	Observaciones
36	Tejido óseo	Espondilitis L1-L2	Bacilos Gram (-)s	
3	Líquido articular	Artritis séptica rodilla	Cocáceas Gram (+)s	46.000 células 87% PMN
7	Líquido articular	Artritis séptica cadera	Cocobacilos Gram (-)s	
1	Líquido articular	Artritis séptica rodilla	Cocobacilos Gram (-)s	

Tabla 4. Rendimiento del estudio microbiológico diferenciado por edad

Microorganismos	Frecuencia de aislamientos bacterianos en infección osteoarticular	
	n	
	< de 15 años	> de 15 años
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	14
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	4
<i>Haemophilus sp</i>	2	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	2
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	-	3
<i>Kingella kingae</i>	2	-
<i>Streptococcus</i> β hemolítico grupo C	-	1
<i>Streptococcus</i> grupo <i>viridans</i>	-	1
<i>Brucella sp</i>	-	1
<i>Escherichia coli</i>	-	1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	1
<i>Propionibacterium sp</i>	-	1
Bacilos Gram (-)s espirilados	-	1
Cocáceas Gram (+)s	1	-
Cocobacilos Gram (-)s	2	-
Bacteriología negativa	5	2
Total	18	33

DISCUSION

Destaca el alto rendimiento del estudio microbiológico en el diagnóstico de la infección osteoarticular, atribuible a la estandarización en la toma de la muestra, especialmente al uso de frasco con un anticoagulante adecuado para el estudio microbiológico (polianetol sulfonato de sodio, SPS), al uso de cultivos en medio líquido (botellas de hemocultivos) y a la disminución del intervalo de tiempo entre la obtención de la muestra y su procesamiento (con inoculación inmediata de la muestra al lado de la cama del paciente). El uso de botellas de hemocultivos con medios líquidos para la inoculación de muestras de líquido articular ya había sido descrito como una forma de mejorar el rendimiento del estudio microbiológico en artritis séptica.⁷ Sin embargo, no estaba descrito para muestras de tejido óseo obtenido por punción percutánea bajo visión radiológica en donde se obtuvo el más alto rendimiento (85%). Estos resultados confirman lo descrito previamente respecto que las muestras de tejidos tendrían mejor rendimiento que las de líquidos, ya

que en estas últimas las bacterias estarían dentro de elementos celulares como macrófagos y polimorfonucleares presentes en el material purulento.

Respecto de los agentes etiológicos encontrados, *S. aureus* es el principal microorganismo causal de infecciones osteoarticulares analizadas en su globalidad.⁸

Sin embargo, cuando se diferencia por grupo etario y por patología, destaca la aparición de *K. kingae* como agente etiológico de artritis séptica en niños, alcanzando la misma frecuencia que *H. influenzae* tipo b y que *S. aureus*. La aparición de *K. kingae* está descrita en la literatura como productor de infecciones osteoarticulares en poblaciones infantiles en las cuales las infecciones graves por *H. influenzae b* han disminuido por efecto de la inmunización contra este patógeno.⁹ En Chile, la reciente introducción de la vacuna anti *H. influenzae b* como parte del Programa Nacional de Inmunizaciones podría explicar estos resultados. Es necesario destacar el aislamiento de *Propionibacterium sp* en una osteomielitis aguda,¹⁰⁻¹¹ habiéndose descrito previamente como

agente productor de esta patología. Del mismo modo merece especial atención el aislamiento de *Brucella sp* a partir de un hemocultivo de un paciente que cursaba una espondilitis cervical.¹²

A pesar de la búsqueda dirigida, destaca la ausencia de *Neisseria gonorrhoeae*, descrita en la literatura como uno de los principales agentes etiológicos de artritis séptica en adultos.¹³⁻¹⁴ No existe una clara explicación para estos resultados. Del mismo modo es necesario resaltar la ausencia de patología infecciosa causada por hongos.

El rendimiento del estudio microbiológico en niños fue menor que en adultos. Esto puede explicarse porque en nuestra serie las artritis sépticas fueron más frecuentes que las osteomielitis agudas en donde el rendimiento, como fue comentado, es mayor en las muestras de tejido.¹⁵

El rendimiento global del estudio microbiológico obtenido es bastante bueno si lo comparamos con nuestra realidad previa, en la cual la confirmación etiológica alcanzaba sólo a 60%, e incluso es similar a la experiencia obtenida en las mejores series clínicas publicadas. Sin embargo, creemos que estos resultados debieran ser mejores, para lo cual es necesario la reeducación del personal de salud en cuanto al concepto de la patología osteoarticular, junto a la incorporación de nuevos avances técnicos como es la lisis de centrifugación que teóricamente mejoraría el rendimiento de las muestras de líquido articular.¹⁶

RESUMEN

La infección osteoarticular (IOA) es una patología grave y secuelante, en la que el diagnóstico precoz cambia el curso de la enfermedad. El rendimiento del estudio microbiológico es variable (60-90%) y depende de la localización de la infección, el tipo de muestra y los métodos microbiológicos utilizados. El objetivo de este estudio fue mejorar la confirmación bacteriológica mediante una solicitud ampliada de cultivos y de nuevas estrategias para el transporte e inoculación de las muestras. Se estudiaron los pacientes con sospecha de IOA median-

te tinción de Gram directa y cultivos aeróbico, en medio de Thayer Martin, anaeróbico, para hongos, micobacterias y hemocultivos. Todas las muestras de líquido sinovial se inocularon en tubos microbiológicos (Becton Dickinson) y las muestras de tejido obtenidas por punción bajo tomografía axial computada (TAC) fueron inoculadas en botellas de hemocultivos (BacT/Alert®, Organon Teknica). Se estudiaron 86 pacientes de los cuales 51 correspondían a IOA. El rendimiento microbiológico global fue de 86%, siendo más alto en osteomielitis aguda e infección de prótesis que en artritis séptica (88, 100 y 82%, respectivamente). *Staphylococcus aureus* fue el patógeno más prevalente, independientemente del tipo de IOA, seguido de *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. La tinción de Gram directa tuvo una sensibilidad de 57% y en 5 pacientes cuyos cultivos fueron negativos, fue positiva. Los hemocultivos fueron positivos como método único en 6 pacientes. La sensibilidad del cultivo de tejido obtenido por punción bajo TAC en botella de hemocultivo fue de 90%. La positividad del cultivo de muestra de tejido óseo o sinovial fue mejor que la de líquido articular (92 versus 69%) y la confirmación microbiológica global fue mejor en adultos que en niños (94 y 72%, respectivamente). Se concluye que la implementación de tubos microbiológicos y la inoculación directa en la botella de hemocultivo son métodos útiles para la recuperación bacteriana. La muestra de tejido debe ser recomendada antes que la de líquido articular y la tinción de Gram y el hemocultivo deben ser considerados como métodos de gran aporte en la confirmación microbiológica de las IOA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- SMITH J W, HASAN M S. Infectious arthritis. In Mandell, Douglas & Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett J E, Dolin R, eds. fifth edition, 2000, Churchill Livingstone; Philadelphia, pp 1175-81.
- 2.- SMITH J W. Infectious arthritis. Infect Dis Clin North Amer 1990; 4: 523-39.
- 3.- GOLDENBERG D L, REED J I. Bacterial arthritis. N Engl J Med 1985; 21: 764-71.
- 4.- ARIS R H, CARVALLO A, PINTO M E. Artritis infecciosas. Rev Méd Chile 1981; 109: 969-76.
- 5.- HO G. Bacterial arthritis. Current Opinion in

- Rheumatol. 1992; 4: 509-15.
- 6.- GOLDENBERG D L, COHEN A S. Acute infectious arthritis. Amer J Med 1976; 60: 369-77.
- 7.- VON ESSEN R, HÖLTÄ A. Improved method of isolating bacteria from joint fluids by the use of blood culture bottles. Ann Rheum Dis 1986; 45: 454-7.
- 8.- ARGENT R J, WILSON C H, WOOD P, BUFFALO M B. Suppurative arthritis. Arch Intern Med 1966; 117: 661-6.
- 9.- YAGUPSKY P, DAGAN R, HOWARD C W, EINHORN M et al. High prevalence of *Kingella kingae* in joint fluid from children with septic arthritis revealed by the BACTEC blood culture system. J Clin Microbiol 1992; 30: 1278-81.
- 10.- FITZGERALD R H Jr, ROSENBLATT J E, TENNEY J H, BOURGAULT A. M. Anaerobic septic arthritis. Clin Orthop 1982; April (164): 141-8.
- 11.- FRAZIER B I. Anaerobic osteomyelitis and arthritis in a military hospital: a 10 year experience. Am J Med 1993; 94: 21-8.
- 12.- RUIZ J, LORENTE Y, PEREZ J, SIMARRO E, MARTINEZ-CAMPOS L. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. J Clin Microbiol 1997; 35: 2417-8.
- 13.- WISE C M, MORRIS C R, WASILAUSKAS L, SALZER W. Gonococcal arthritis in an era of increasing penicillin resistance. Arch Intern Med 1994; 154: 2690-5.
- 14.- SHARP. Infectious arthritis. Arch Intern Med 1979; 139: 1125-30.
- 15.- SHAW B A, KASSER J R. Acute septic arthritis in infancy and childhood. Clin Orthopaed Related Res 1990; 257: 212-29.
- 16.- YAGUPSKY P, PRESS J. Use of the Isolator 1.5 microbial tube for culture of synovial fluid from patients with septic arthritis. J Clin Microbiol 1997; 35: 2410-2.

Correspondencia a:
Patricia García C.
Laboratorio de Microbiología
Universidad Católica de Chile
Av. Vicuña Mackenna 4686
Santiago, Chile.
email: pgarcia@med.puc.cl