



Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto Mexicano del Seguro Social

Unidad Médica de Alta especialidad

“Dr. Victorio de la Fuente Narváez”,

Distrito Federal.

Título:

**Caracterización histopatológica y bacteriológica de las
membranas peri implante en pacientes sometidos a retiro de
material de osteosíntesis y su correlación clínica**

Tesis de postgrado para obtener la especialización médica en:

Ortopedia

Presenta: Dr. José Antonio Hernández García

Investigador responsable: Dra. Elizabeth Pérez Hernández

Tutor: Dra. Elizabeth Pérez Hernández

No. De Registro: R-2010-3401-11



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Investigador responsable y tutor: Dra. Elizabeth Pérez Hernández

Servicios participantes: Rescate Osteoarticular, Reemplazos Articulares, Ortopedia Mixta, Anatomía Patológica, Laboratorio Clínico y Educación e Investigación en Salud.

Colaboradores:

Rescate Osteoarticular: Dr. Octaviano Rosales Serafin, Dr. Carlos Mercado Martínez, Dr. Fausto García Abad, Dr. Alfredo Díaz Romero, Dr. Adrián Huematzin Rivera Villa, Dr. Rivera Hidalgo, Dr, Adrian Miguel.

Reemplazos Articulares:

Dr. José Jesús Pérez Correa, Dr. Salas, Dr. Sergio González Caraza, Dr. Salinas Zambrano, Dr. García Ramos, Dr. Aguilera Pedro, Dr. Alejandro Ramirez .

Ortopedia mixta:

Dr. Rogelio Solano Pérez, médicos adscritos Servicio de Ortopedia Mixta.

Laboratorio Clínico:

Dr. Alexis I. Galván Bobadilla, Dr. Juan Manuel Sánchez Cañas.

Anatomía Patológica: Dr. Mario Ayala Zavala, Dra. Adriana Atencio Chan, Dra. Mitsue López Añorve.

Educación e Investigación en Salud:

Dr. Manuel I. Barrera García

Médicos residentes:

Dr. Alfredo González García, Dr. Eduardo Vega Pérez Oscar.

Correspondencia: Dra. Elizabeth Pérez Hernández. Hospital de Ortopedia “Dr. Victorio de la Fuente Narváez”, 1^{er} piso (División de Educación e Investigación en Salud) UMAE “Dr. Victorio de la Fuente Narváez”, Distrito Federal. IMSS, México, D. F. Colector 15 s/n (Av. Fortuna) Esq. Av. Instituto Politécnico Nacional. Col. Magdalena de las Salinas, Deleg. Gustavo A. Madero. C.P. 07760. Tel: 5747 3500 ext. 25349, 25350. Email: elizabeth.perezh@imss.gob.mx; perezheliza@aol.com

**Instituto Mexicano del Seguro Social
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez"
Distrito Federal.**

HOJA DE APROBACION

**Dr. Lorenzo Rogelio Bárcena Jiménez
Director general
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez". Distrito Federal.**

**Dr. Uriah M. Guevara López.
Director de Educación e Investigación en Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez". Distrito Federal.**

**Dr. Rubén Torres González.
Jefe de la División de Investigación en Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez". Distrito Federal.**

**Dr. L. Roberto Palapa García.
Jefe de División de Educación En Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez". Distrito Federal.**

**Dr. Manuel Ignacio Barrera García.
Profesor Titular del Curso de la Especialización Médica en Ortopedia
Coordinador Clínico de Educación e Investigación en Salud del Hospital de Ortopedia de la
Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Victorio de la Fuente Narváez", Distrito Federal.**

**Dra. Elizabeth Pérez Hernández
Hospital de Ortopedia "Dr. Victorio de la Fuente Narváez", 1er piso (División de
Educación e Investigación en Salud) UMAE "Dr. Victorio de la Fuente Narváez"**

Dedicatoria y Agradecimientos.

A Dios: Por mantener mi fe y así mismo mis éxitos , pues en el han sido encomendados.

A mi esposa: Ely tu amor ha sido parte de todos nuestros éxitos, para forjar nuestro futuro juntos al lado de nuestro hijo.

A mi hijo: Has vivido mis 4 años de residencia, durante el trabajo mas difícil llegaste y sin duda la presencia de un hijo es inigualable, es la mayor ilusión y la mayor felicidad que uno puede tener.

A mis padres: Me han dado todo lo mejor para mi educación, me da gusto brindarles un post grado después de todo lo que han hecho por mi, han sido un ejemplo por su gran superación que han tenido en la vida, gracias! .

A mis compañeros: Ha sido un placer compartir la residencia con ustedes, siempre tendrán un amigo.

A los médicos de la UMAE: Gracias por sus enseñanzas y apoyo durante mi especialidad.

A Dr. Barrera y Dra. Perez: Gracias por su apoyo y trabajo que han hecho para nosotros, felicidades por su interés de formación hacia los residentes.

Índice

1. Resumen	7-9
2. Antecedentes	10-19
3. Justificación y planteamiento del problema	20-21
4. Pregunta de Investigación	21
5. Objetivos	21
5.1. Objetivos específicos	21
6. Hipótesis	21
7. Material y Métodos	
7.1. Tipo de estudio	22
7.2. Metodología	22-23
7.3. Criterios de selección	23-24
7.4. Variables de estudio	24-26
7.5. Análisis estadístico	26
7.6. Tamaño de muestra	27
7.7. Recursos Humanos	27-28
7.8. Recursos materiales	28
8. Consideraciones éticas	29
9. Factibilidad	
10. Resultados	30-43
11. Análisis estadístico	44
12. Discusión	45-46
13. Conclusiones	47
14. Referencias	48-49
15. Cronograma de actividades	50
16. Anexos	
16.1. Consentimiento informado	51

I RESUMEN

Las membranas periprotésicas o biofilm, adquieren su termino en 1850 por Koch, son micromembranas que cubren la interfase entre el hueso metal o hueso cemento, y son un sitio frecuente para alojamiento de microorganismos que conllevan respuestas inflamatorias e infecciones sistémicas.

Dichos microorganismos permanecen en la interfase hueso-metal, hueso cemento de una forma latente, se caracterizan por crecimiento lento y evasión de la respuesta inmunológica por la falta de circulación en esta región. Las membranas periprotésicas están formadas en mayor medida por agua, matriz extracelular, proteínas, y microorganismos.

Morawietz clasifica las membranas periprotésicas en cuatro tipos: Tipo I inducida por partículas de desgaste, tipo II infecciosa, tipo III combinada y tipo IV indeterminada.

Objetivo: El presente estudio estuvo encaminado a caracterizar las membranas periimplante (clavos centromedulares, placas, alambre, prótesis) obtenidas de pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis desde el punto de vista histopatológico, bacteriológico y establecer su correlación con marcadores biológicos de la respuesta sistémica.

Tipo de estudio: investigación aplicada, prospectivo, descriptivo.

Criterios de selección: se incluyeron a pacientes que son sometidos a retiro de material de osteosíntesis, de cualquier sexo y edad de los servicios de rescate osteoarticular, endoprótesis y ortopedia mixta. Criterios de no inclusión y de eliminación: muestras insuficientes, muestras con datos de desecación, contaminadas o no incluidas de forma apropiada en el medio de transporte.

Tamaño de muestra: 89 pacientes.

Metodología: Se determinó en suero; PCR (proteína c reactiva), VSG (velocidad de sedimentación globular) y cuenta leucocitaria como parte del protocolo preoperatorio. Análisis histopatológico y clasificación morfológica de las membranas periimplante obtenidas de acuerdo a los criterios propuestos por Morawietz con determinación de neutrófilos por 10 campos de alta resolución, y análisis bacteriológico para microorganismos aeróbicos.

Resultados:

El presente estudio se realizó en el Hospital de Ortopedia “Dr. Victorio de la Fuente Narváez” con el apoyo de los servicios de Rescate Osteoarticular y Reemplazos Articulares. Se recolectaron un total de 89 muestras correspondientes a membranas peri implante obtenidas durante el transquirúrgico de pacientes sometido a retiro de material de osteosíntesis durante un lapso de 2 meses de recolección.

Se revisó el expediente clínico de cada paciente para la obtención de información respecto al tiempo de evolución con el implante (prótesis de cadera, de rodilla, placas DCP 3.5, clavo centromedular, sistema DHS y alambre), y se recolectaron los resultados de estudios de laboratorio como VSG, PCR y cuenta leucocitaria.

En el Laboratorio Clínico se llevó a cabo el análisis bacteriológico para microorganismos aerobios de cada una de las membranas periimplante.

Del total de las muestras que cumplieron con los criterios de selección, el 45% correspondieron a mujeres y el 55% a hombres.

El rango de edad de los pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis fue de 19 a 87 años.

Discusión: El diagnóstico de infección periprotésica sigue siendo un problema complejo, pues no hay ninguna modalidad diagnóstica única con sensibilidad y especificidad absolutas. El diagnóstico exacto exige una combinación de pruebas y una firme sospecha clínica. Las pruebas como recuento leucocitario, velocidad de sedimentación globular, los niveles de proteína C reactiva y el estudio histológico de la membrana peri implante no se correlacionan entre si para la determinación de un diagnóstico específico de infección. Sin embargo, los subtipos histológicos de las membranas peri implante en patologías como el aflojamiento protésico séptico y aséptico correlacionan importantemente con el tipo de implante y la microbiología.

Conclusiones: La clasificación histopatológica de las membranas se correlaciona significativamente con el tipo de implante.

El subtipo morfológico de las membranas peri implante correlaciona de manera altamente significativa con el microorganismo aislado.

No existe correlación entre el tipo de membrana y los marcadores biológicos de la inflamación (reactantes de fase aguda), la vida media del implante y la cuenta leucocitaria.

2 ANTECEDENTES

Las biopelículas (biofilm) son comunidades complejas de microorganismos presentes en ambientes naturales que crecen sobre una superficie viva o inerte. Estos microorganismos forman asociaciones de una o múltiples especies entre una matriz de exopolisacárido, con una organización semejante a la de los organismos multicelulares.¹

El concepto data de 1850, cuando Koch aplica el término a sus trabajos en material de osteosíntesis, para así entender las infecciones bacterianas crónicas.²

El crecimiento en biofilm representa la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza y su formación no parece estar restringida a un grupo específico de microorganismos, se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formar biofilms.

Las biopelículas son muy difíciles de eliminar y son una fuente de infecciones persistentes. Su presencia en implantes médicos se debe al contacto de estos con fluidos corporales y a la reducción de la respuesta inmune en las proximidades de cuerpos extraños. Dentro del biofilm, las bacterias están protegidas de la acción de los anticuerpos, del ataque de las células fagocíticas y de los tratamientos antimicrobianos.

COMPOSICION DE BIOFILM

El componente mayoritario del biofilm es agua, el cual representa hasta un 97% del contenido total. La matriz del biofilm es un complejo formado principalmente

por exopolisacáridos, y en menor cantidad proteínas, DNA y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias.

En la biopelícula, las células bacterianas están distribuidas heterogéneamente formando microcolonias, donde solamente 10 a 20% del volumen total es celular y el resto matriz; la arquitectura de la matriz del biofilm presenta canales que permiten el flujo de agua, nutrientes y oxígeno incluso hasta las zonas más profundas del biofilm.

ETAPAS EN EL PROCESO DE FORMACIÓN DEL BIOFILM

La etapa inicial del proceso de formación del biofilm es la adherencia sobre la superficie. En bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*) se ha visto que los flagelos, las fimbrias de tipo I, IV y los curli son importantes para la etapa de adherencia primaria. Aunque la motilidad ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias Gram positivas inmóviles como estafilococos, estreptococos y micobacterias son capaces de formar biofilm. En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie (AtIE, Bap, Esp) en esta primera etapa de adherencia primaria. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar^{3,4}.

En una etapa posterior la bacteria comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm y forma estructuras similares a setas (*mushrooms*) entre las cuales se observa la presencia de canales. La composición del exopolisacárido es diferente en cada bacteria y varía desde alginato en *P.*

aeruginosa, celulosa en *S. typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*, poly-N-acetilglucosamina en *S. aureus*, etc. Además, estudios recientes han puesto de manifiesto que incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir distintos exopolisacáridos como componentes de la matriz del biofilm.⁵

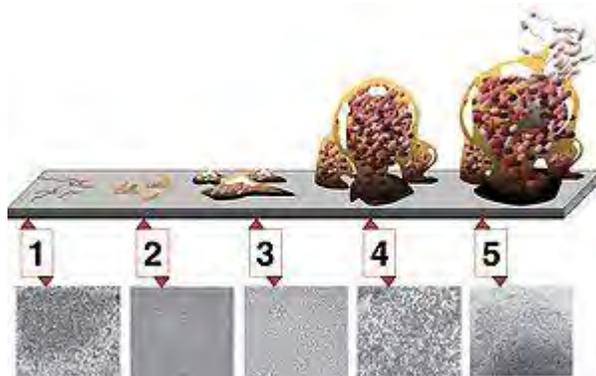


Figura 1. Etapas en el proceso de formación del biofilm.

1.- ataque inicial, 2.- ataque irreversible, 3.- etapa de maduración I 4.- etapa de maduración II, 5.- dispersión.

BIOFILM E INFECCIÓN

Aunque normalmente los biofilms bacterianos se asocian con procesos infecciosos, es necesario señalar que algunos biofilms tienen un papel protector. Por ejemplo, los biofilms de lactobacilos presentes en la vagina fermentan el glucógeno producido por las células epiteliales al ser inducidas por los estrógenos, produciendo ácidos que disminuyen el pH vaginal y previenen de esa manera la colonización por microorganismos patógenos.

Además del beneficio de los biofilms bacterianos, existen numerosas evidencias epidemiológicas que relacionan los biofilms con distintos procesos infecciosos. La

infección asociada a tejido dañado-cuerpo-extraño-biomaterial incluye una serie de características comunes:

1. Colonización de sustratos por bacterias adhesivas formadoras de biofilm.
2. Presencia de un biomaterial, tejido dañado, o sustrato de tejido relativamente acelular.
3. Iniciación de infección por pequeños inóculos bacterianos.
4. Resistencia mediada por el biofilm bacteriano a los mecanismos de defensa del huésped y a la terapia antibiótica.
5. Infecciones causadas con mucha frecuencia por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*.
6. Infecciones persistentes por resistencia al tratamiento antimicrobiano.
7. Presencia de inflamación, tejido celular dañado, y necrosis en la interfase tejido-implante (zona fibroinflamatoria, inmunoincompetente) generado por partículas debridadas del biomaterial.
8. Alteración de la respuesta mediada por células y posiblemente biofilms sobre implantes médicos⁶.

Los biofilms sobre implantes médicos pueden estar compuestos por bacterias Gram positivas, Gram negativas o levaduras. Estos microorganismos proceden de la piel del propio paciente, del personal sanitario o del ambiente. Pueden estar formados por una única especie o por múltiples especies, dependiendo del implante y de la duración de su uso en el paciente. Cuando un implante se contamina con bacterias, varios factores influyen en que se desarrolle un biofilm sobre el mismo. Inicialmente los microorganismos deben adherirse a la superficie del implante el tiempo suficiente para que la adherencia sea irreversible. Esta

adherencia depende del flujo de líquido al que está sometido el implante, del número de bacterias que se adhieren, de las características físico-químicas del implante y de la respuesta inmune del huésped^{7,8}.

Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie del implante y ha formado el biofilm, este biofilm actúa como una fuente de infección sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Los mecanismos por los que el biofilm produce los síntomas de la enfermedad todavía no están completamente establecidos, pero se ha sugerido que las bacterias del biofilm pueden producir endotoxinas, se pueden liberar grupos de bacterias al torrente sanguíneo, se vuelven resistentes a la acción fagocitaria de las células del sistema inmune y por otro lado, constituyen un nicho para la aparición de bacterias resistentes a los tratamientos antibióticos. Este último aspecto puede ser especialmente relevante dado que las bacterias resistentes originadas en un biofilm podrían extenderse de paciente a paciente a través de las manos del personal sanitario.

ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN FRENTE A INFECCIONES POR BIOFILMS SOBRE IMPLANTES

Los microorganismos pueden colonizar la prótesis en el momento de su colocación, por inoculación directa durante la manipulación del tejido o el implante, o por contaminación aérea de la herida; y después del implante, por diseminación hematogena, durante una bacteriemia o por extensión directa a partir de un foco adyacente de infección. La contaminación del implante en el momento de la intervención quirúrgica se puede evitar mediante quimioprofilaxis quirúrgica y/o la utilización de quirófanos dotados de flujo laminar. La posible contaminación posterior se puede evitar mediante el diagnóstico y tratamiento precoz de las

infecciones y mediante el uso de quimioprofilaxis en intervenciones y procedimientos médicos que pueden llevar a bacteriemia⁹.

El tratamiento antibiótico sistémico, en general no consigue la erradicación del biofilm pero en general se debe implantar para destruir las bacterias que pasan al torrente circulatorio. El tratamiento antibiótico sistémico debe ser inicialmente de amplio espectro y debe ser sustituido por antibióticos específicos una vez identificado el microorganismo causante de la infección. Dado que un número muy elevado de infecciones asociadas a implantes están causadas por bacterias Gram positivas del género estafilococo, vancomicina y teicoplanina son los antibióticos de primera elección para el tratamiento de estas infecciones.

El tratamiento de las infecciones de prótesis articulares, incluye terapia antimicrobiana agresiva asociada a procedimientos quirúrgicos que incluyen desbridamiento completo para retirar los materiales infectados incluyendo el segmento, los tejidos desvitalizados, y el hueso. En la mayor parte de los casos los intentos para salvar la prótesis son infructuosos y es necesario el retiro del implante y el uso de terapia antimicrobiana apropiada de larga duración y posterior reimplantación de la prótesis articular¹⁰.

Los estudios in vitro han demostrado que las bacterias son capaces de adherirse y crecer sobre antibióticos que se encuentran en las superficies de cemento, a pesar de las elevadas concentraciones locales de la sustancia antibacteriana no es suficiente para inhibir la infección¹¹.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL BIOFILM

Los implantes ortopédicos forman “membranas” de biofilm de 0.1 hasta 1mm de espesor. Estas membranas son fácilmente extraídas durante los procedimientos

quirúrgicos ortopédicos y son susceptibles de análisis histopatológico. La membrana se encuentra localizada en la interfase hueso-material de osteosíntesis, o en los casos de reemplazos articulares totales, entre el hueso y el cemento.

TIPOS DE MEMBRANA EN LA INTERFASE HUESO – MATERIAL DE OSTEOSÍNTESIS.

Tipo I inducida por partículas de desgaste. Se caracteriza por la presencia de partículas de cuerpo extraño, abundantes macrófagos y células gigantes multinucleadas en al menos 20% del tejido. Se pueden identificar partículas de metil metacrilato, dióxido de zirconio o sulfato de bario.

Tipo II infecciosa. Se observa la presencia de tejido de granulación con abundantes leucocitos neutrófilos y células plasmáticas, sin partículas de cuerpo extraño.

Tipo III combinada. Contempla aspectos del tipo I y II en forma simultánea

Tipo IV indeterminada. Muestra parámetros morfológicos diferentes a la tipo I y la tipo II, con mayor presencia de abundantes fibras de colágena, fibrina, fibroblastos y macrófagos.

Estudios previos en tejido periprotésico reportaron membranas tipo I en un 54.3%, tipo II en un 19.7 %, tipo III en un 5.4 % y tipo IV un 15.4%, y en un 5.1 % de los casos no fue posible determinar el tipo debido a que la muestra fue insuficiente, o el origen del espécimen no fue claro o definitivamente incorrecto.

En dicho estudio se observó correlación entre la formación de la membrana y el tiempo de evolución en la colocación del implante. El tipo I se presentó con una media de 10.1 años, el tipo II de 3.2 años, el tipo III de 4.5 años y el tipo IV de 5.4 años.

De acuerdo al tipo de implante, reportaron membranas tipo I en un 46.7% de las prótesis no cementadas y en un 65.1% de las prótesis cementadas. La tipo II en un 20% estuvo presente tanto en prótesis cementadas como no cementadas; las membranas tipo III en un 3.6% en especímenes con cemento y en un 9.3 % sin cemento y las membranas de tipo IV en un 24.3% en no cementadas y en un 10.1% en cementadas.

Reportaron infección en un 33.1% de los casos, de los cuales mas del 50% fue ocasionado con un solo patógeno y en menor proporción por múltiples patógenos. Los microorganismos más frecuentemente involucrados en orden de frecuencia fueron *S. coagulasa negativa*, *S. epidermidis* y *S aureus*¹².

RECHAZO DE MATERIAL DE OSTEOSINTESIS

La utilización de materiales metálicos en el tratamiento de fracturas se generalizó a partir del siglo XX. La primera prótesis articular colocada fue de cadera por Charnley en 1962. Las primeras prótesis tenían pares de fricción metal-metal produciendo gran rozamiento, depósito de partículas metálicas en los tejidos de la articulación y aflojamiento. Estas prótesis fueron diseñadas de *Vitallium* (cromo, cobalto, molibdeno y trazas de níquel) y posteriormente se sustituyeron por acero inoxidable.

Posteriormente se introdujeron pares de fricción metal-plástico que inducían menos sensibilizaciones, pero que al generar más material de desecho en la articulación podían producir una reacción de cuerpo extraño y ocasionar aflojamiento aséptico de la prótesis. La utilización de prótesis en una población cada vez más joven ha incrementado nuevamente el uso de superficies de fricción metal-metal y cerámica-cerámica.

Pasaron todavía algunos años hasta que se sospechó que el rechazo o aflojamiento aséptico de las prótesis pudiera estar relacionado con una reacción a sus componentes.

PATOGENIA

Un efecto conocido es la liberación de materiales de los implantes, especialmente metales por efecto de la corrosión. Al ser los fluidos corporales de carácter salino, atacan la superficie de los metales con los que contactan, produciendo una disolución paulatina y uniforme del metal. En el caso de los metales también es posible la corrosión por efecto de las corrientes electrogalvánicas generadas por la coexistencia, en un mismo sujeto y en proximidad, de implantes con distintas clases de metales.

La cantidad total de metales liberada por efecto de la corrosión es relativamente baja (se estima que entre 0,15-0,30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{día}$ y alrededor de 11 mg/año para una prótesis total de cadera), pero es un factor que contribuye a la acumulación de metal. Sin embargo, la cifra total de iones metálicos liberados por la corrosión es solamente la mitad de la calculada como necesaria para sensibilizar a níquel por vía cutánea, por lo que su importancia patogénica es controvertida.

Las partículas metálicas liberadas por el desgaste y la corrosión no pasan al organismo tal cual, sino que son fagocitadas por las células. Su digestión intracelular origina la disolución de las partículas metálicas y su distribución posterior por los fluidos corporales. En varios estudios se ha confirmado la presencia de iones metálicos de níquel, cobalto y cromo en diversos fluidos (líquido sinovial, sangre humana total, suero, orina). La presencia de iones

metálicos en el organismo, no inertes, produce una serie de efectos desde respuestas fisiológicas a respuestas patológicas¹³

- Unión a proteínas, especialmente albúmina, habitualmente de forma reversible.
- Quimiotaxis
- Respuesta inflamatoria aguda
- Efectos enzimáticos
- Toxicidad
- Respuesta inmunológica.

RESPUESTA INMUNE

Aunque se ha pensado en una reacción de hipersensibilidad retardada como causante de este tipo de patología, también se ha podido demostrar en algunos casos la existencia de sensibilización inmediata, encontrándose la existencia de anticuerpos IgE específicos frente a metales. Toda reacción inmune requiere una fase de sensibilización, en la que se produce una respuesta inmunológica sin traducción clínica y una fase de respuesta en la que un contacto posterior desencadena una respuesta clínica, al existir ya una respuesta inmune^{14,15}.

3 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Servicio de Rescate Osteoarticular del HOVFN realiza anualmente un promedio de 985 cirugías, de las cuales 276 aproximadamente corresponden a retiro de material de osteosíntesis y el 7.7% se asocian a infecciones óseas. El Servicio de Endoprótesis realiza un promedio de 56 cirugías de revisión anuales. La unidad reporta una tasa de infección hospitalaria anual del 3%. Entre los microorganismos más frecuentemente aislados en cultivos de secreción y de material periprotésico se reportan *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. coagulasa negativo* y *E. coli*.

Las bacterias en las biopelículas se mantienen protegidas de la respuesta inmune, del sistema fagocítico mononuclear y de los antimicrobianos; por lo tanto, es importante determinar la correlación que existe entre la microbiota aislada de los cultivos mencionados y los que conforman propiamente la membrana periprotésica, así como la correlación con el tipo de implante y tipo de fijación.

También resulta importante mostrar la correlación de los cambios histopatológicos con el análisis microbiológico de las membranas no solamente periprotésicas, sino periimplante para apoyo diagnóstico de la infección ósea, así como el análisis morfológico de la pérdida endoprotésica aséptica.

Los resultados del trabajo propuesto proponen:

- 1 establecer las bases para la integración y/o actualización del protocolo de manejo en los pacientes programados para retiro de material de osteosíntesis.
- 2 proporcionar información respecto a los agentes causales más frecuentemente relacionados a procesos infecciosos en este tipo de pacientes, con la finalidad de correlacionar con la antibiótico-profilaxis y antibiótico terapia utilizada actualmente.

3 determinar la correlación entre el estudio histopatológico de las membranas peri implante, con el análisis bacteriológico y las características relacionadas con el material de osteosíntesis utilizado.

4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuales son la características histopatológicas y bacteriológicas de las membranas peri implantes, y su relación con las modificaciones en reactantes de fase aguda en pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis?

5 OBJETIVO GENERAL

Se caracterizaron las membranas peri implante mediante análisis histopatológico y bacteriológico y se estableció su relación con marcadores biológicos de inflamación (reactantes de fase aguda).

5.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Se identificaron las alteraciones en marcadores biológicos de inflamación (reactantes de fase aguda) en pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis de los servicios de ROA, endoprótesis y ortopedia mixta.
- Se examinaron y clasificaron los cambios histopatológicos de las membranas peri implante de acuerdo a los criterios de Morawietz y se hizo el conteo del número de neutrófilos por 10 campos de alta resolución.
- Determinamos la existencia y tipo de agente infeccioso en las membranas peri implante mediante cultivo para microorganismos aeróbicos.

6. HIPÓTESIS

No requerida.

7 MATERIAL Y METODOS

7.1 Tipo de estudio: Investigación aplicada, prospectiva y descriptiva.

7.2 Metodología

7.2.1 Reactantes de fase aguda.

Las determinaciones de reactantes de fase aguda (velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva), así como la cuenta leucocitaria se realizaron en suero obtenido de pacientes programados para retiro de material de osteosíntesis, previo al procedimiento quirúrgico y como parte del protocolo de estudio preoperatorio.

7.2.2 Clasificación histológica.

Las muestras de membranas peri implante se obtuvieron durante el transquirúrgico de pacientes programados para retiro de material de osteosíntesis: placas, clavos centro medulares, prótesis de cadera cementadas y no cementadas, prótesis de rodilla cementadas y no cementadas, alambre. Una sección de las muestras se colocó de manera inmediata en formalina al 10%, evitando desecación del mismo, y trasladada al departamento de anatomía patológica para el procesamiento y análisis histopatológico correspondiente.

La evaluación histopatológica se llevó a cabo por 2 observadores (médicos anatomopatólogos con experiencia en el campo), de manera independiente en estudio cegado. Para el análisis morfológico, se utilizó la clasificación histopatológica de Morawietz, que contempla 4 tipos de membranas periprotésicas:

- I. Tipo inducida por partículas de desgaste. Detección de partículas de cuerpo extraño, macrófagos y células gigantes multinucleadas en al menos 20% del tejido.
- II. Tipo infeccioso. Presencia de tejido de granulación con abundantes leucocitos neutrófilos y células plasmáticas, sin partículas de cuerpo extraño.
- III. Tipo combinado. Contempla aspectos del tipo I y II en forma simultánea
- IV. Tipo indeterminado. Parámetros morfológicos diferentes a la tipo I y la tipo II, con mayor presencia de fibrosis y fibras de colágena.

Además de la clasificación referida, la evaluación histopatológica incluyó la determinación del número de neutrófilos por 10 campos de alta resolución en muestras teñidas con hematoxilina y eosina convencional.

7.2.3. Estudio bacteriológico

Para el análisis microbiológico se obtuvo una muestra por raspado de la membrana peri implante, la cual se colocó inmediatamente en medio de transporte Stuart, y se envió a laboratorio clínico para el análisis correspondiente, que incluyó cultivo para microorganismos aeróbicos.

7.3 Criterios de selección

7.3.1 Criterios de inclusión

- Membranas obtenidas durante los procedimientos de retiro de material de osteosíntesis de pacientes del servicio de ROA, endoprótesis y ortopedia mixta: prótesis cementadas y no cementadas, placas, clavos centromedulares y alambre.
- Pacientes de ambos sexos y de cualquier edad.

7.3.2 Criterios de no inclusión

- Muestras obtenidas de material de osteosíntesis sumergido en soluciones diferentes a las requeridas para procesamiento.
- Membranas con cambios por desecación relacionados con el tiempo de exposición al medio ambiente.
- Manejo inadecuado de las membranas.
- Material insuficiente para análisis.

7.3.3 Criterios de eliminación

- Muestras con deficiencias en la técnica de obtención, fijación y procesamiento tanto para análisis histopatológico como para análisis microbiológico.

7.4 Variables de estudio

7.4.1 Variable independiente:

Membranas peri implante asociadas a retiro de material de osteosíntesis.

7.4.2 Variables dependientes:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo	Medición
Tipo de membrana peri implante	Estructura laminar formada por lípidos y proteínas que recubre a una extensión artificial que reemplaza o provee una parte del cuerpo faltante.	Membrana formada en la interfase hueso-implante-tejido adyacente	Cualitativa nominal	Tipo I, II, III y IV de acuerdo a la clasificación de Morawietz.
Tipo de implante	material sintético o natural que es introducido en el cuerpo con la intención de sanar, curar o corregir algún problema de salud.	Dispositivo constituido por una sustancia o combinación de sustancias, de origen natural o sintético, que pueden ser usados por algún período, como todo o como parte de	Cualitativa nominal	Endoprótesis, placas, clavos centromedulares y alambre

		un sistema que trata, aumenta, o reemplaza algún tejido, órgano o función del cuerpo, biocompatible, resistente a la corrosión en el medio biológico, y/o con capacidad de integración ósea		
Tipo de fijación del implante	Forma de hacer estable una pieza	Forma como se mantiene fijo el material de osteosíntesis.	Cualitativa nominal	Cementado y no cementado
Microorganismo aislado	Organismo unicelular de tamaño microscópico, separado de otros.	Ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio.	Cualitativa nominal	Especie de microorganismo aerobio
Número de neutrófilos por 10 campos de alta resolución	Glóbulos blancos de tipo granulocito	Cantidad de neutrófilos presentes en un campo en un aumento de 40x mediante microscopia óptica	Cuantitativa discreta	Número de células
Vida media del implante	Promedio de duración de una estructura	Promedio de vida del material de osteosíntesis	Cuantitativa continua	Tiempo expresado en meses
Velocidad de sedimentación globular	Tiempo en mm/hr en la que se forma o deposita materia que tras haber estado suspensa en un líquido se posa en el fondo del recipiente que lo contiene	Cantidad de tiempo que tarda en suspenderse el contenido celular de la sangre en un tubo, cuantificado en milímetros / hora.	Cuantitativa discreta	Tiempo en milímetros/hora.
Proteína C reactiva	Aminoácidos producidos por el hígado cuyo nivel se eleva cuando hay inflamación sistémica.	Proteína hepática producida en casos de respuesta inflamatoria aguda.	Cuantitativa discreta	Miligramos/litro
Cuenta leucocitaria	Número de células esferoidales incoloras, con citoplasma viscoso que se encuentran en la sangre y en la linfa y forman parte	Número de glóbulos blancos presentes en la sangre.	Cuantitativa continua	Células por micro/litro.

	del sistema inmunológico corporal.			
--	------------------------------------	--	--	--

7.5 Análisis estadístico

Para las variables categóricas se integraron tablas de contingencia. La relación entre variables cuantitativas se estableció mediante técnicas de regresión lineal bivariada y multivariada. Se propuso el siguiente análisis estadístico respecto a las principales variables consideradas en el estudio:

Correlación	Tipo de análisis
Vida promedio del implante y el tipo histológico de membrana periprotésica	Análisis univariado
Tipo de fijación y correlación histopatológica	X ² Pearson
Diagnóstico histológico y microbiológico	p Spearman
Pérdida endoprotésica séptica y aséptica, y correlación histopatológica.	X ² Pearson

7.6 Tamaño de muestra:

De acuerdo a la fórmula de estimación de proporciones, utilizando un nivel de confianza de 95% (1.96) y una proporción de (porcentaje de pacientes infectados respecto al número total de cirugías) se obtiene:

Cirugías 2009 - 986

Promedio: 23 cirugías mensuales, 276 anuales, de los cuales 3% corresponden a infecciones óseas.

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{d^2}$$

$$Z^2 = 1.96$$

$$p = 0.03 \text{ (3\%)}$$

$$q = 1 - p \text{ (1 - 0.03) = 0.97}$$

$$d = 3\%$$

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.03 \times 0.97}{0.03^2} = 124$$

7.7 Recursos humanos

1. Se cuenta con la colaboración de los médicos ortopedistas adscritos y residentes del servicio de rescate osteoarticular, los cuales apoyaron durante el procedimiento quirúrgico de retiro de material de osteosíntesis en la toma de la membrana periprotésica, con previa capacitación del personal.
2. El médico residente responsable del proyecto se encargó de verificar la disponibilidad de medio de transporte y formalina al 10% previo a los procedimientos quirúrgicos programados y trasladó las muestras obtenidas

correspondientes a los servicios de laboratorio clínico y anatomía patológica para su procesamiento.

3. Se contó con el apoyo de los servicios de laboratorio clínico y anatomía patológica para el procesamiento de las muestras, así como de médicos patólogos clínicos y anatomopatólogos para la interpretación de los resultados de las mismas.
4. Una vez obtenidos los resultados, el médico residente responsable del proyecto elaboró la base de datos, de acuerdo a las variables de estudio señalados anteriormente.
5. Al término de la captura de la información y el análisis estadístico correspondiente, el grupo de investigación responsable del proyecto analizó los resultados y determinó las conclusiones.

7.8 Recursos materiales

1. Equipamiento para determinación de reactantes de fase aguda a cargo del laboratorio clínico:
2. Equipamiento para procesamiento de muestras para análisis histopatológico a cargo del servicio de anatomía patológica de la unidad: procesador de tejidos, unidad de inclusión en parafina, microtomos rotatorios, tren de tinción para hematoxilina y eosina, microscopios ópticos, reactivos para procesamiento de tejidos.
3. Equipamiento para análisis microbiológico a cargo del laboratorio clínico: equipo Vitek, tarjetas, medio de transporte, medios de cultivo.

8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio no puso en peligro la integridad del paciente y se apegó estrictamente a las Normas y Reglamentos vigentes de Investigación en Salud en Seres Humanos, que incluyen:

- Reglamento en Materia de Investigación para la Salud de la Ley General de Salud en México:

Título segundo: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, capítulo 1, Disposiciones generales. En los artículos 13 al 27.

Asimismo, se apegó a las consideraciones internacionales de ética:

- Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

De acuerdo a la naturaleza y requerimiento del estudio, se solicitó el consentimiento informado correspondiente (anexo 2), con la libertad de elección de participación, sin repercusión alguna sobre el protocolo de estudio y manejo médico-quirúrgico habitual.

El presente trabajo se presentó al Comité Local de Investigación de Ortopedia y Traumatología para su evaluación y registro respectivo.

9 FACTIBILIDAD

El presente estudio fue factible de acuerdo a la disponibilidad de recursos humanos para la recolección de muestras, y el apoyo de los servicios de laboratorio clínico y anatomía patológica de la Unidad, para el procesamiento e interpretación de las mismas.

10 RESULTADOS.

El presente estudio se realizó en el Hospital de Ortopedia “Dr. Victorio de la Fuente Narváez” con el apoyo de los servicios de Rescate Osteoarticular y Reemplazos Articulares. Se recolectaron un total de 89 muestras correspondientes a membranas peri implante obtenidas durante el transquirúrgico de pacientes sometido a retiro de material de osteosíntesis durante un lapso de 2 meses de recolección.

De acuerdo a los objetivos planteados, en el Departamento de Anatomía Patológica se evaluó el tipo de membrana peri implante y el número de neutrófilos por 10 campos de alta resolución.

Se revisó el expediente clínico de cada paciente para la obtención de información respecto al tiempo de evolución con el implante (prótesis de cadera, de rodilla, placas DCP 3.5, clavo centromedular, sistema DHS y alambre), y se recolectaron los resultados de estudios de laboratorio como VSG, PCR y cuenta leucocitaria.

En el Laboratorio Clínico se llevó a cabo el análisis bacteriológico para microorganismos aerobios de cada una de las membranas peri implante.

Del total de las muestras que cumplieron con los criterios de selección, el 45% correspondieron a mujeres y el 55% a hombres (Figura 1).



El rango de edad de los pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis fue de 19 a 87 años. En prótesis cementadas, el promedio de edad fue de 65.3 años (rango de 41 a 87 años), en prótesis no cementadas el promedio fue de 62.1 años (rango de 44 a 77 años), en clavos centromedulares de 48.3 años (rango de 23 a 80 años), en sistema DHS de 68.2 años (rango de 59 a 83 años), en placas DCP de 42.8 años (rango de 19 a 67 años) y el paciente al cual se retiro alambre tenía 51 años de edad (Figura 2, tabla 1).

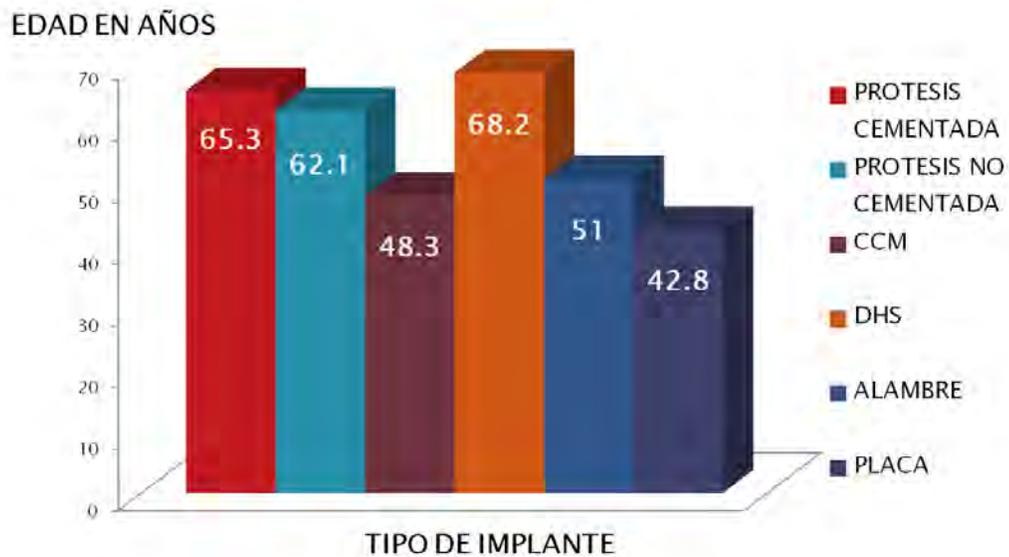


Figura 2. Tipo de implante y promedio de edad de los pacientes.

	PROMEDIO	RANGO
PROT CEMENT	65.3 años	41 a 87 años
PROT. NO CEMENT	62.1 años	44 a 77 años
CCM	48.3 años	23 a 80 años
DHS	68.2 años	rango de 59 a 83 años
ALAMBRE	51 años	
PLACA	42.8 años	rango de 19 a 67 años

Tabla 1. Tipo de implante y promedio de edad de los pacientes

Clasificación histológica de las membranas y número de neutrófilos

Todas las muestras recolectadas fueron suficientes e incluidas en el estudio. Las membranas se fijaron en formol al 10% y se embebieron en parafina para análisis histopatológico. Los tipos de membrana peri implante se clasificaron de acuerdo a los criterios de Morawietz. Cincuenta y ocho de las muestras se clasificaron como tipo I inducida por partículas de desgaste (65.1%), 18 como tipo II infecciosa (20.2%), 10 como tipo III combinada (11.2%) y 3 como tipo IV indeterminada (3.3%) (Figura 3, Tabla 2).

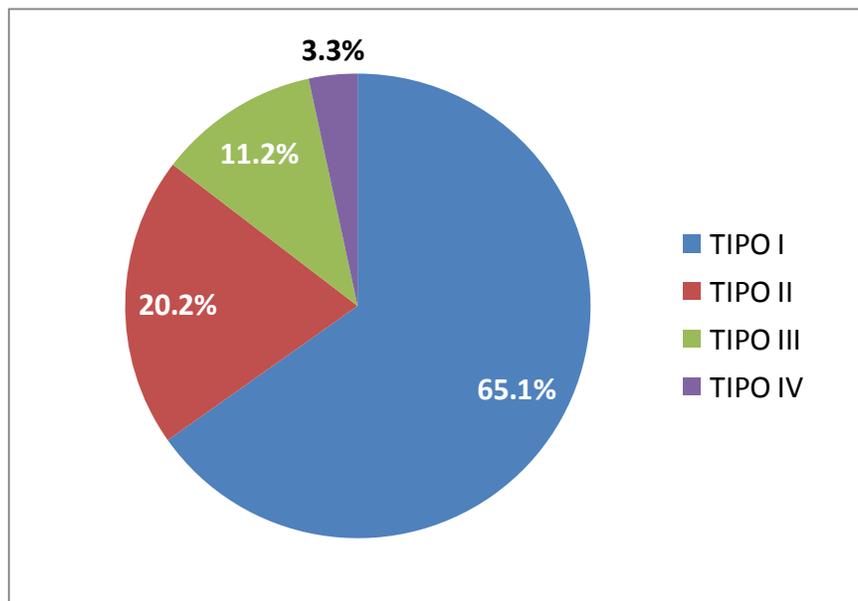


Figura 3. Clasificación histológica de las membranas.

TIPO DE MEMBRANA	NUMERO	%
TIPO I	58	65.1
TIPO II	18	20.2
TIPO III	10	11.2
TIPO IV	3	3.3
TOTAL	89	

Tabla 2. Clasificación histológica de las membranas

Las microfotografías representativas de cada uno de los tipos de membranas peri implante se presentan en la siguiente figura 4:

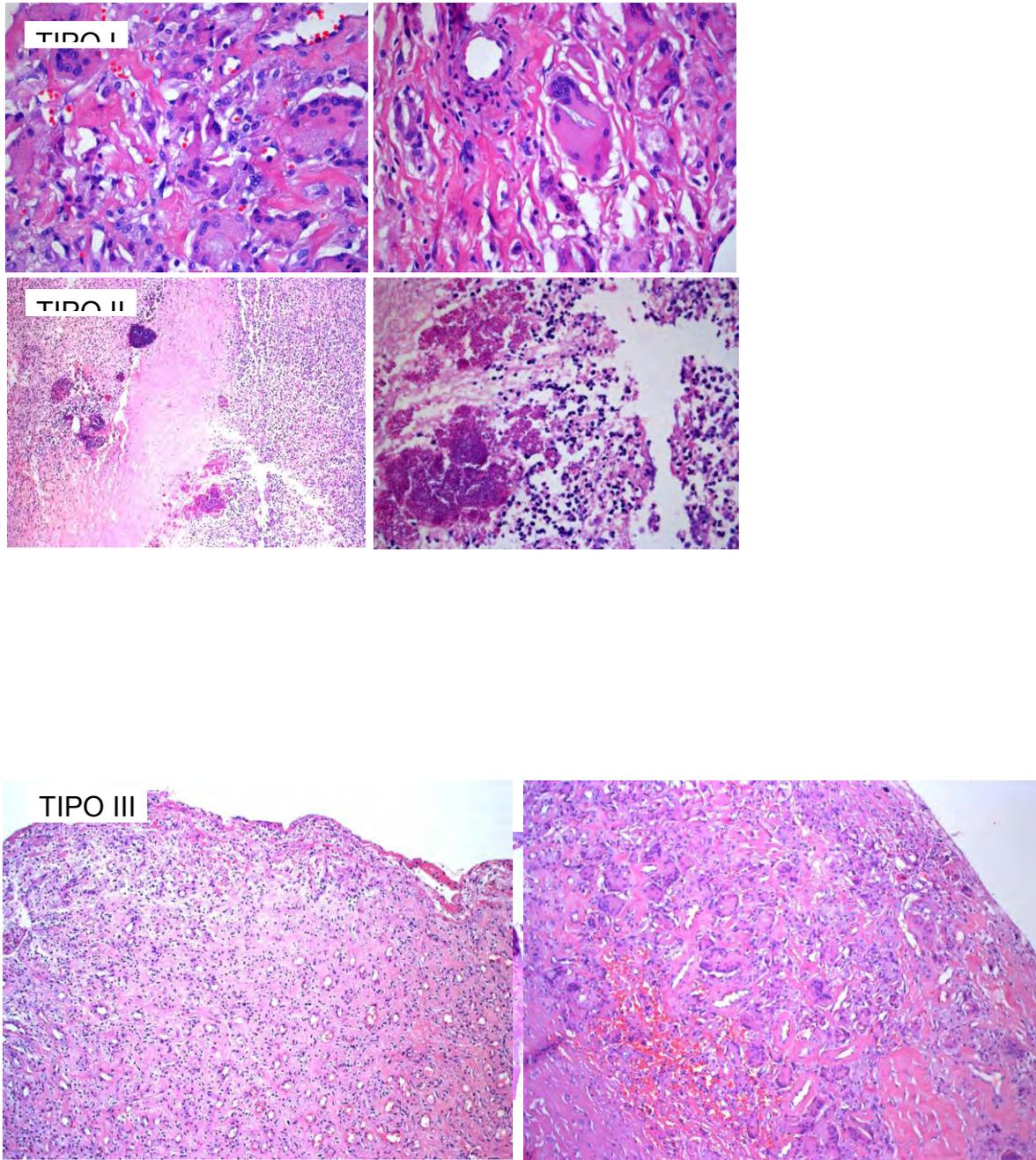


Figura 4: Cortes histológicos de membranas peri implante, según la clasificación de Morawietz.

Otra de las variables evaluada en cada de las muestras fue el número de neutrófilos por 10 campos de alta resolución, de las 89 muestras analizadas, no se identificaron neutrófilos en 47 casos (52.8%), todas ellas clasificadas como membranas tipo I. Dividimos el número de neutrófilos en 3 grupos, de 1 a 5 por 10 campos de alta resolución, de 6 a 10 y más de 10. En el grupo de 1 a 5 neutrófilos se presentaron 9 casos asociados a membranas tipo I, del grupo de 6 a 10 neutrófilos se registró un caso asociado a membrana tipo I y en el grupo de más de 10 neutrófilos se detectaron un total de 32 casos de los cuales un 1 caso correspondió a membrana tipo I, 18 casos a la tipo II, 10 a la tipo III y 3 a tipo IV (Figura 5, Tabla 3).

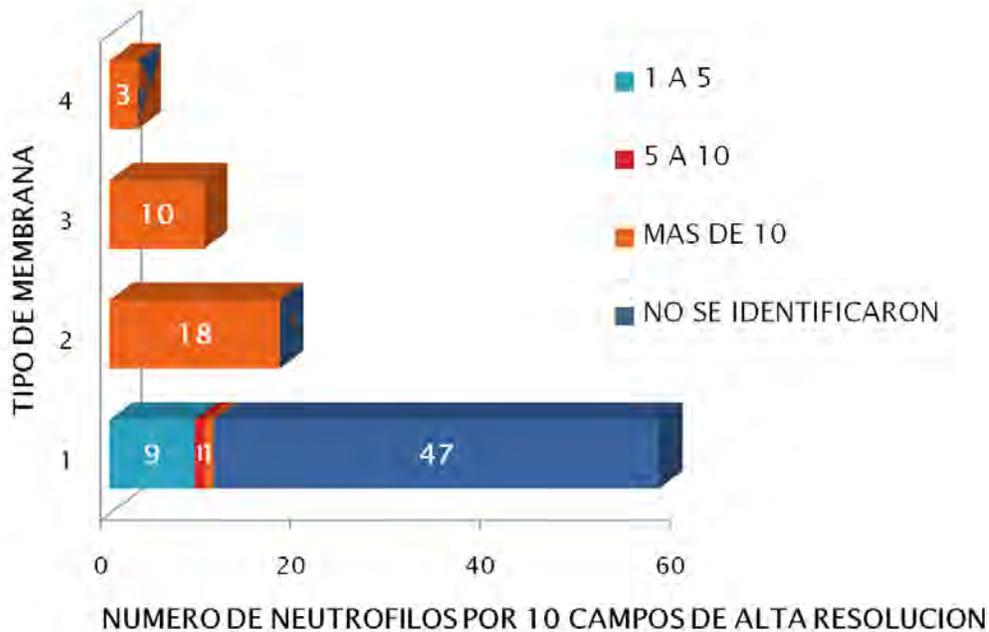


Figura 5. Clasificación histológica de las membranas y número de neutrófilos.

TIPO DE MEMBRANA	NUMERO DE CASOS			
	No. Neutrófilos x 10 cap	1 A 5	6 A 10	MAS DE 10
TIPO I	9	1	1	47
TIPO II	0	0	18	0
TIPO III	0	0	10	0
TIPO IV	0	0	3	0

Tabla 3. Numero de neutrófilos por 10 campos de alta resolución, según el tipo de membrana periimplante.

Tipo de implante y clasificación histológica de las membranas

En relación al tipo de implante, se incluyeron pacientes con prótesis cementadas y no cementadas de cadera y rodilla, clavos centromedulares, placas, alambre y sistema DHS. Treinta y seis correspondientes al Servicio de Reemplazos Articulares (40.44%), y 53 al Servicio de Rescate Osteoarticular (59.55%). Cuarenta y cuatro muestras se obtuvieron a partir de prótesis cementadas (49.4%), 13 de prótesis no cementadas (14.6%), 20 de clavos centromedulares (22.4%), 4 de sistemas DHS (4.4 %), 7 de placas (7.8%), y una muestra de alambre (1.1 %) (Figura 6, Tabla 4).

Los diferentes de tipos membranas y los tipos de implantes se resumen en la (Figura 7, Tabla 5).

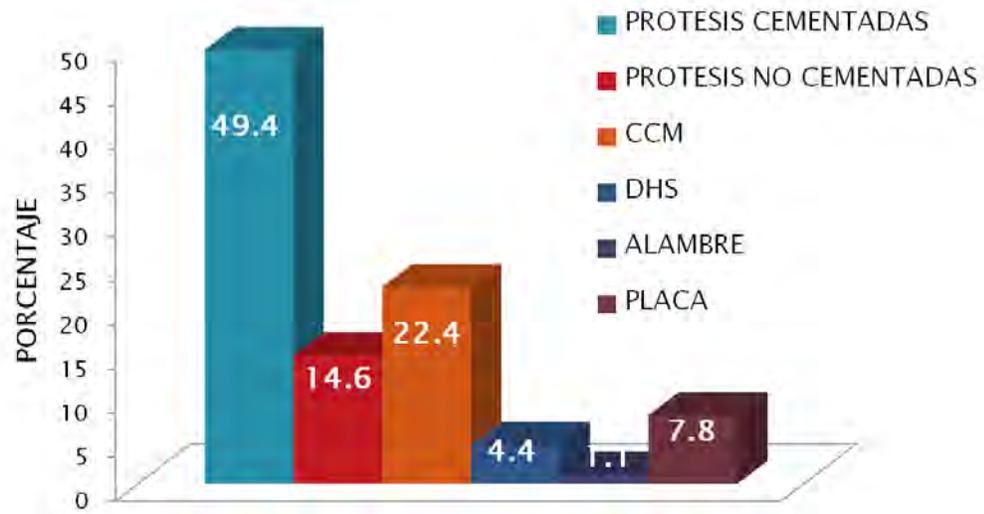


Figura 6. Tipo de implantes

TIPO DE IMPLANTE	NUMERO	%
PROT. CEMENT	44	49.4
PROT. NO CEMENT	13	14.6
CCM	20	22.4
DHS	4	4.4
ALAMBRE	1	1.1
PLACA	7	7.8
TOTAL	89	

Tabla 4. Numero de muestras según tipo de implante y porcentaje de distribución.

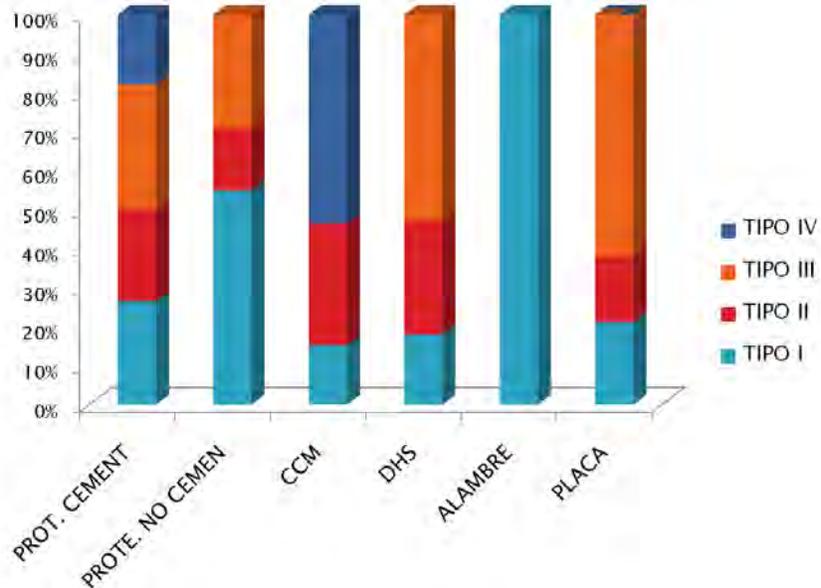


Figura 7. Clasificación histológica de las membranas y tipo de implante

TIPO DE MEMBRANA	PROT. CEMENT	PROTE. NO CEMEN	CCM	DHS	ALAMBRE	PLACA
TIPO I	29 (50%)	11 (18.9%)	11 (18.9%)	2 (3.4%)	1 (1.72%)	4 (6.8%)
TIPO II	8 (44.4%)	1 (5.5%)	7 (38.8%)	1 (5.5%)	0	1 (5.5%)
TIPO III	6 (60%)	1 (10%)	0	1 (10%)	0	2 (20%)
TIPO IV	1 (33.3%)	0	2 (66.6%)	0	0	0

Tabla 5. Clasificación histológica de las membranas y tipo de implante.

Las membranas peri implante tipo I se identificaron en las prótesis cementadas de cadera y rodilla en un total de 29 pacientes (50%), en prótesis no cementadas de cadera y clavos centromedulares se reportaron en 11 pacientes (18.9%) respectivamente, en DHS 2 casos (3.4 %), asociadas a alambre 1 caso (1.7%) y en placas 4 casos (6.8%) (Figura 8, tab.3-4).

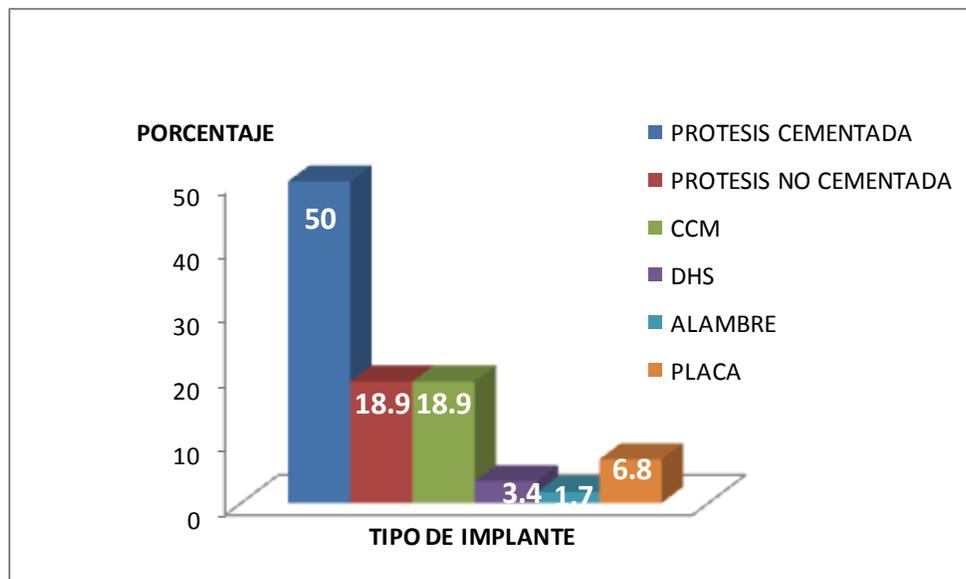


Figura 8. Membranas tipo I, identificadas en material de osteosíntesis

Las membranas tipo II se registraron en 8 casos (44.4%) de prótesis cementadas, en 1 caso de prótesis no cementadas (5.5%), en 7 casos de clavos centromedulares (38.8%) y en 2 pacientes con sistema DHS y placa DCP (5.5%) respectivamente (Figura 9, tab. 4-5).

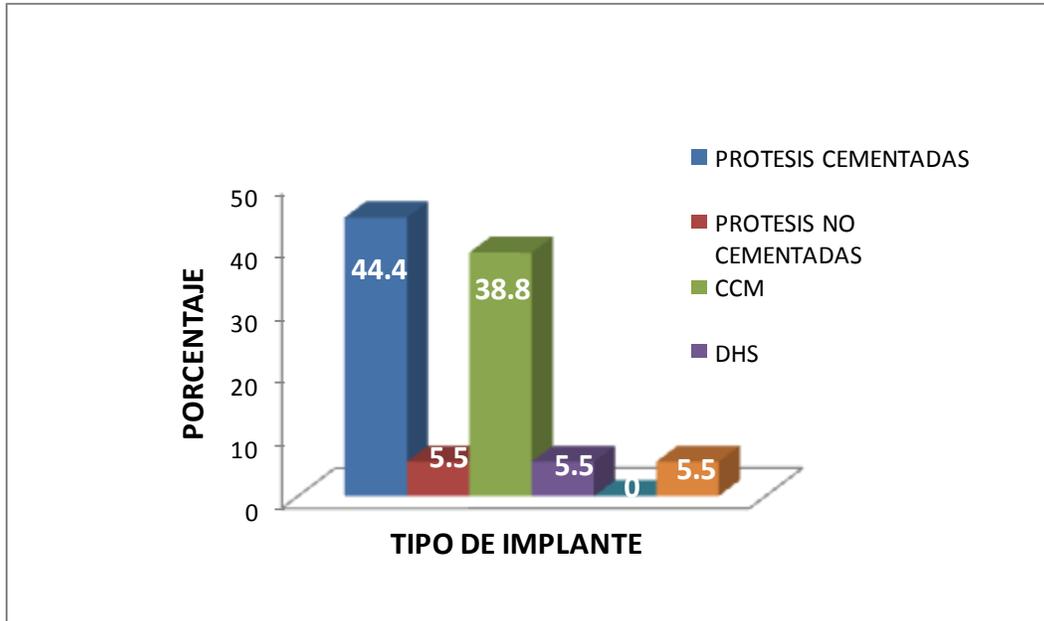


Figura 9. Membranas tipo II, identificadas en material de osteosíntesis

Las membranas tipo III fueron las más frecuentemente asociadas a prótesis cementadas en 6 casos (60%), en 2 casos a placas (20%) y en 2 casos asociados a prótesis no cementada y sistema DHS (10%, respectivamente). No se observaron membranas tipo III asociadas a clavos centromedulares ni alambre (Figura 10, tab 4-5).

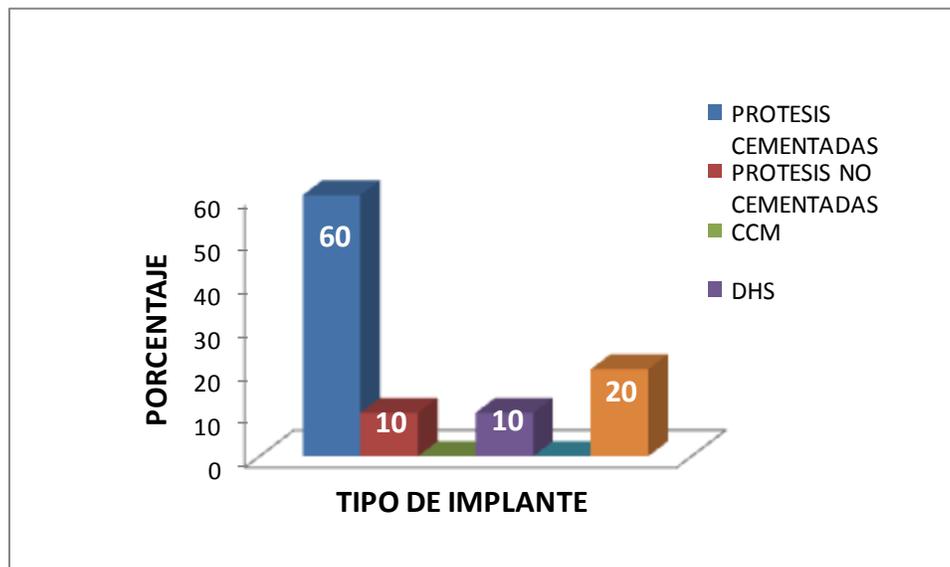


Figura 10. Membranas tipo III, identificadas en material de osteosíntesis

Las membranas tipo IV fueron las menos frecuentes, el 66.6% se presentaron en clavos centromedulares (2 pacientes) y en un 33.3% en prótesis cementadas (1 paciente) (tabla 4-5).

Respecto a la vida media del implante, en las prótesis cementadas tanto de cadera como de rodilla, se observó un promedio de uso de 17.5 meses (rango de 2 a 204 meses), en prótesis no cementadas de cadera un promedio de uso de 28.3 meses (rango de 6 a 72 meses), en clavos centromedulares de tibia, fémur y húmero se observó un promedio de 41.9 meses (rango de 1 a 480 meses), en el sistema DHS se reportó un promedio de 12 meses (rango de 6 a 24 meses) y en placas DCP un promedio de 80.1 meses (rango de 9 a 228 meses). El único paciente al cual se le retiro alambre lo utilizó por 12 meses (Figura 11, tabla 8).

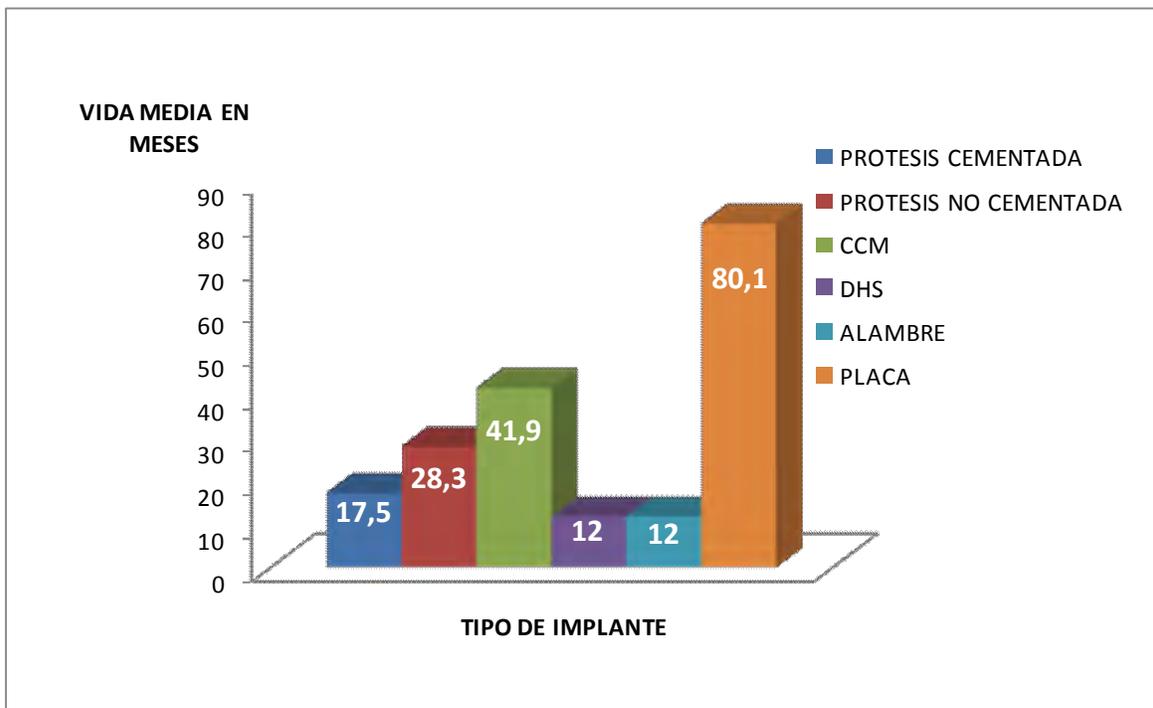


Figura 11. Vida media del implante

TIPO DE IMPLANTE	PROMEDIO	RANGO
PROT CEMENT	17.5 meses	2 a 204 meses
PROT. NO CEMENT	28.3 meses	6 a 72 meses
CCM	41.9 meses	1 a 480 meses
DHS	12 meses	6 a 24 meses
ALAMBRE	12 meses	
PLACA	80.1 meses	9 a 228 meses

Tabla 6. Vida media del implante.

Vida media del implante y tipo de membranas

Se correlacionó el tipo de membrana periimplante y la vida media del material de osteosíntesis. Las prótesis cementadas con membranas tipo I, se retiraron en un promedio de 20.5 meses, las prótesis no cementadas en 27.5 meses, los clavos centromedulares en 20.4 meses, los sistemas DHS en 6 meses, y las placas DCP en 84 meses.

Las prótesis cementadas con membranas tipo II se retiraron en un promedio de 10.7 meses, las prótesis no cementadas en 48 meses, los clavos centromedulares en 80.7 meses, DHS en 24 meses, y las placas en 108 meses.

Las prótesis cementadas con membranas tipo III se retiraron en un promedio de 16 meses, las no cementadas en 18 meses, el DHS en 12 meses, y las placas en 58.5 meses.

Las prótesis cementada con membranas tipo IV se registró un promedio de uso de 12 meses y los clavos centromedulares 24 meses (Tabla 7).

TIPO DE MEMBRANA	PROT CEMEN	PROT NO CEMEN	CCM	DHS	PLACA
TIPO I	20.5 meses	27.5 meses	20.4 meses	6 meses	84 meses
TIPO II	10.7 meses	48 meses	80.7 meses	24 meses	108 meses
TIPO III	16 meses	18 meses	0	12 meses	58.5 meses
TIPO IV	12 meses	0	24 meses	0	0

Tabla 7. Vida media del implante y tipo de membrana.

Bacteriología y tipo de membranas

Cada una de las muestras fue tomada con técnica estéril y enviada a Laboratorio Clínico para cultivo. Respecto a los microorganismos reportados, se obtuvo *S. aureus* en 12 casos, *S. aureus* y *E. coli* también en 12 casos, *S. coagulasa* negativo en 3 casos y *E. coli* únicamente en 2 casos, con un total de 29 pacientes en los que se obtuvieron cultivos positivos, el resto de las muestras se reportaron con cultivos sin desarrollo (60 muestras) (tabla 8).

Respecto al tipo de membranas, 55 casos de la tipo I no mostraron desarrollo bacteriano (94.8%), en 3 casos se aisló *S. aureus*, *E. coli* y *S. aureus*, *E. coli* solamente (1.7%, respectivamente). De las 18 muestras clasificadas como tipo II, 3 cultivos fueron negativos (16.6%), 5 muestras presentaron desarrollo de *S. aureus* (27.7%), 7 casos con *S. aureus* y *E. coli* (38.8%), en 2 se reportó *S. coagulasa* negativo (11.1%) y en un caso se presentó *E. coli* (5.5%). Las

membranas tipo III se identificaron en 10 casos, de las cuales 1 muestra no mostró desarrollo (10%), 5 casos con *S. aureus* (50%), 3 casos con *S. aureus* y *E. coli* (30%), y un caso con *S. coagulasa* negativo (10%). Las membranas tipo IV (3 casos), reportaron uno de ellos sin desarrollo, y 2 casos con *S. aureus* y *S. aureus* y *E. coli* respectivamente (33.3%) (Figura 12, tab 5)

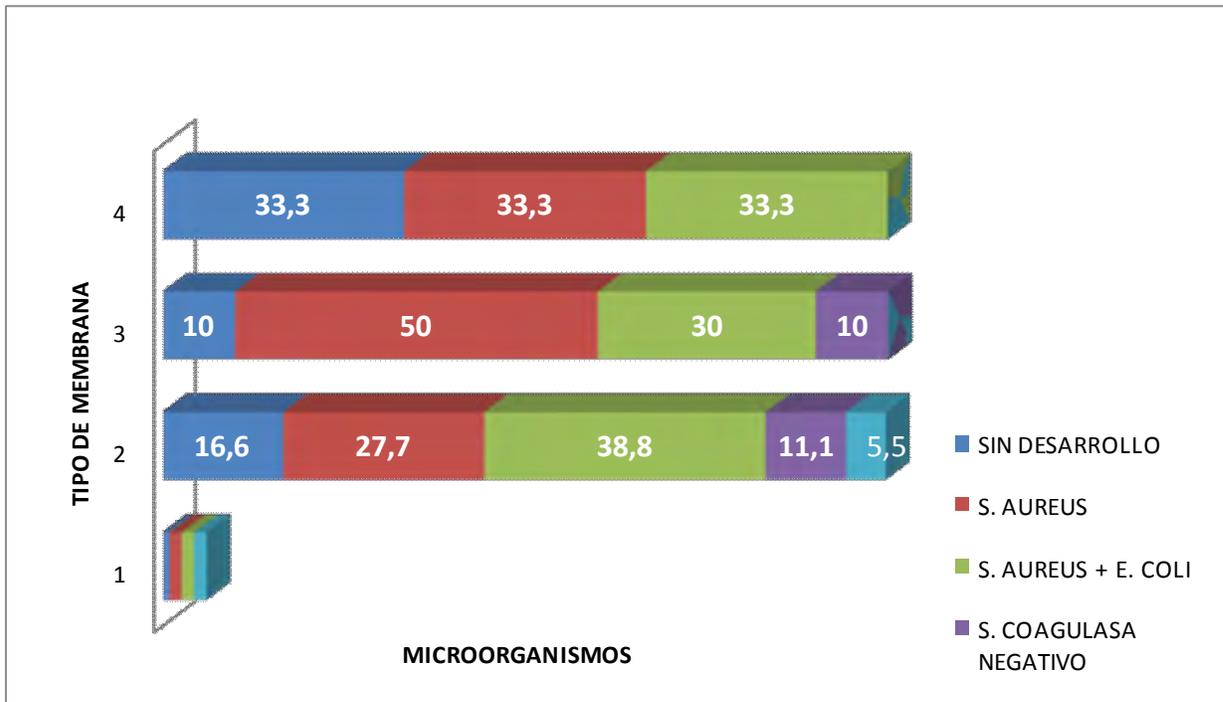


Figura 12. Tipos de membrana y desarrollo microbiológico

TIPO DE MEMBRANA	SIN DESARROLLO	S. AUREUS	S. AURES + E. COLI	S. COAGULASA NEG	E. COLI
TIPO I	94.80%	1.7	1.7	0	1.7
TIPO II	16.6	27.7	38.8	11.1	5.5
TIPO III	10	50	30	10	0
TIPO IV	33.3	33.3	33.3	0	0

Tabla 8. Tipos de membrana y desarrollo bacteriológico.

Reactantes de fase aguda, cuenta leucocitaria y tipificación de las membranas.

Respecto a los marcadores biológicos de la inflamación, la proteína c reactiva se reportó negativa en el 100% de los pacientes sometidos a retiro de material de

osteosíntesis. La velocidad de sedimentación globular se reportó elevada en 30/58 pacientes con membranas tipo I (57.1%), con cifras de 20 a 44; en 12/19 pacientes con membranas tipo II (63.1%) con cifras de 20 a 41; en 7/10 pacientes con membranas tipo III (70%) con cifras de 23 a 40; y en 3/3 (100%) pacientes con membranas tipo IV.

La cuenta leucocitaria se elevó en 3 casos, uno correspondiente a un paciente con membrana tipo I, otro con membrana tipo II y uno más con membrana tipo III.

No se identificó significancia estadística en el análisis de estos resultados.

11 Análisis estadístico

La correlación entre el tipo de implante y la presentación de los diferentes tipos de membrana mostró significancia estadística con un valor de $p=0.0027$. Igualmente se obtuvieron resultados altamente significativos en la correlación del tipo de membrana y los hallazgos bacteriológicos con una $p<0.0001$. No se identificó índice de correlación entre el tipo de membrana y la vida media del implante, ni entre el tipo de membrana y la cuenta leucocitaria sérica, así como con reactantes de fase aguda (Tabla 9).

Correlación de variables	r	P (<0.05)
Tipo de membrana y tipo de implante	r Spearman = 0.3138 (0.1067-0.4948)	0.0027
Tipo de membrana y vida media del implante	Coeficiente correlación r = 0.02018 (-0.1889-0.2275)	0.8511
Tipo de membrana y microorganismo aislado	r Spearman = 0.7484 (0.6361-0.8296)	<0.0001
Tipo de membrana y cuenta leucocitaria sérica	Coeficiente correlación r = 0.06582 (-0.1410-0.2671)	0.5331
Tipo de membrana y VSG	Coeficiente correlación r = 0.1788 (-0.02702-0.3701)	0.0881

Tabla 9. Análisis estadístico.

12 DISCUSIÓN

El término biopelícula se describió desde 1850 por Koch en trabajos de material de osteosíntesis. Hasta hace solo una década se determinaron los tipos de membrana periprotésica por Morawietz, en nuestro estudio similarmente a los resultados de este autor, la membrana periimplante tipo I inducida por partículas de desgaste fue la más frecuente en un 65.1%. Esta membrana se caracterizó por la presencia de partículas de cuerpo extraño, abundantes macrófagos y células gigantes multinucleadas.

El tipo de membrana de acuerdo a nuestros resultados, correlaciona significativamente con el tipo de implante, observándose un predominio de membranas tipo I, II y III asociadas a prótesis cementadas. Esta correlación sugiere el desarrollo de las membranas peri implante respecto al tipo de biomaterial, tal y como lo refiere Morawietz hipotéticamente, mencionando que el cemento óseo puede contribuir al aflojamiento prótesico debido a las partículas de desgaste.

Por otra parte, observamos correlación altamente significativa entre el tipo de membrana peri implante y los hallazgos microbiológicos. Las membranas tipo II y III se relacionaron más frecuente al desarrollo de colonias bacterianas, en las cuales predominaron *S. aureus* en forma aislada o en combinación con *E. coli*. Morawietz y cols., a diferencia de nuestros resultados, reportaron el mayor número de casos asociados a *S. coagulasa* negativo y *epidermidis*, con escasos casos asociados a *S. aureus* y ningún caso de *E. coli*.

El diagnóstico de infección periprotésica sigue siendo un problema complejo, pues no hay ninguna modalidad diagnóstica única con sensibilidad y especificidad absolutas. El diagnóstico exacto exige una combinación de pruebas y una firme sospecha clínica. Las pruebas como recuento leucocitario, velocidad de sedimentación globular, los niveles de proteína C reactiva y el estudio histológico de la membrana peri implante no se correlacionan entre si para la determinación de un diagnóstico específico de infección. Sin embargo, los subtipos histológicos de las membranas peri implante en patologías como el aflojamiento protésico séptico y aséptico correlacionan importantemente con el tipo de implante y la microbiología.

La determinación de los tipos de membranas peri implante según la clasificación de Morawietz, depende en gran medida de la experiencia del patólogo que interpreta los cortes, además de la calidad metodológica de obtención de las muestras aplicada por el cirujano. La estrecha comunicación entre el cirujano ortopeda y patólogo, permite al equipo médico establecer sus propios umbrales de decisión. Los cultivos intraoperatorios, aunque son considerados el patrón de referencia, pueden ser negativos en algunos casos de infección peri implante clínicamente probada, en estos casos, en los cuales los reportes negativos o falsos negativos conducen a errores diagnósticos, el cirujano puede apoyarse en estudios histológicos o de ser posible en estudios moleculares.

En el futuro, los nuevos métodos moleculares de diagnóstico apoyarán el diagnóstico de las infecciones peri implante de forma más certera, además de dar una mejor definición diagnóstica del tipo de membranas y microorganismos asociados.

13 CONCLUSIONES.

- La clasificación histopatológica de las membranas se correlaciona significativamente con el tipo de implante.
- El subtipo morfológico de las membranas peri implante correlaciona de manera altamente significativa con el microorganismo aislado.
- No existe correlación entre el tipo de membrana y los marcadores biológicos de la inflamación (reactantes de fase aguda), la vida media del implante y la cuenta leucocitaria.

14. REFERENCIAS

1. J. Otero, R. Baños, I. Mete, E. Llop, Estudios mediante microscopía de AFM de las propiedades mecánicas de bacterias pseudomonas formadoras de biofilms. FYT 2008; 1: 22-25.
2. J. Vila, Alex Sorian, J. Mensa, Base moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos. Papel de las bicapas en las infecciones asociadas a los materiales protésicos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26(1): 48-55.
3. Andrew L. Miner, Elena Losina, Jeffrey N. Katz, Deep infection after total knee replacement: Impact of laminar airflow systems and body exhaust suits in the modern operating room. Infection control and Hospital epidemiology 2007; 28: 222-226.
4. Christian Florian, Debora Alvarado, Juana Loha, Evaluación in vitro de la resistencia a ciprofloxacino en biopelículas y poblaciones planctónicas de pseudomonas aeruginosa de origen hospitalario. Anales de la facultad de medicina, Universidad de España San Marcos 2006; 67: 290-297.
5. Naomi Kabayashi, Thomas W. Bauer, Marion J. Tuohy, Takaaki Fujishiro, Brief ultrasonication improves detection of biofilm – formative bacteria around a metal implant. Clinical orthopaedics and related research 2006; 457: 210-213.
6. I. Lasa, J.L. del Pozo, J. R. Penades, J. Leiva, Bacterial biofilms and infection. An. Stst. Navar 2005; 28(2): 163-175.

7. Kee-Yong Ha, Yang-Guk Chung, Seung-Joan Eyon, Adherence and biofilm formation of staphylococcus epidermidis and mycobacterium tuberculosis on various spinal implants. Spine 2005; 30: 38-43.
8. Juan Antonio Barcat, Biofilms. Medicina (Buenos Aires) 2005; 65: 369-372.
9. Dasnielle Neut, Johannes Ge Hendriks, Jim Ruan Henny, Henk J Busscher, Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and slime excretion on antibiotic to added bone cement. Act Orthopaedica 2005; 76(1): 109-114.
10. J. William Costerton, Biofilms in orthopaedic infections. Clinical Orthopaedics and Related Research 2005; 437: 7-11.
11. Naomi Balaban, Paul Stoodley, Christoph A. Fux, Suzanne Wilson, Prevention of staphylococcal Biofilm associated infections by the quorum sensing inhibition RIP. Clinical Orthopaedics and related Research 2005; 437: 48-54.
12. Garth D. Ehrlich, Paul Stoodley, Saudeep Kathju, Engineering approaches for the detection and control of orthopaedic biofilm infections. Clinical orthopaedics and related research 2005; 437: 59-66.
13. García Abujeta, Hernando de la Rraivendi, Muñoz Lejarazu, Immunoallergic reactions to materials used in orthopaedic surgery and traumatology. Patología del Aparato locomotor 2004; 2(2): 114-125.
14. Feeman, Bob A, Microbiología de Borrows 22a edición, Interamericana, España 1996: 57-62.
15. Thomas W. Bauer, Javad Parvizi, Naomi Kobayashi, Viktor Krebs, Reseña sobre Conceptos Actuales. Diagnóstico de infección periprotésica 2007; 12(3): 544-554.

15 CRONOGRAMA

	DIC 2009	ENE 2010	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL
Estado del arte								
Diseño del protocolo								
Evaluación y registro por el CLIS								
Recolección de muestras								
Procesamiento y análisis de muestras								
Análisis estadístico de resultados								
Redacción de tesis								

16 Anexos

Consentimiento informado

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACION, INVESTIGACION Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACION DE INVESTIGACION EN SALUD
UMAE "DR. VICTORIO DE LA FUENTE NARVAEZ", DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE ORTOPEDIA**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México, D.F. _____ de _____ de _____

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:

Caracterización histopatológica y bacteriológica de las membranas periimplante en pacientes sometidos a retiro de material de osteosíntesis y su correlación clínica

Registrado ante el Comité Local de Investigación en Salud con el número: _____

El objetivo del estudio es: Buscar las características de las membranas periimplante (tejido formado y pegado al implante) mediante análisis histopatológico (morfología) y bacteriológico (bacteria presente), y establecer su relación con marcadores en sangre.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Permitir la toma de la membrana periimplante durante la cirugía de retiro de material de osteosíntesis (clavo, placa, prótesis, etc.) para posterior estudio de la misma. Además como parte del protocolo de estudio previo a la cirugía, se tomará una muestra de sangre para determinar los valores de pruebas de laboratorio (velocidad de sedimentación globular, proteína c reactiva y cuenta leucocitaria).

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias, y beneficios derivados de mi participación en el estudio que son los siguientes:

La toma de las muestras no implica ningún riesgo para mi persona y no interfieren en el proceso de atención médica y quirúrgica previamente determinado por mi médico tratante. Mi participación ayudará a mejorar criterios de tratamiento en pacientes con infecciones óseas y aflojamientos de material de osteosíntesis.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme respuesta a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que no lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán tratados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar mi parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Nombre y firma del sujeto

Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable

Número telefónico a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, duda o preguntas relacionadas con el estudio: 5747 3500 ext. 25349

Testigo

Testigo

Nombre y firma

Nombre y firma